UNIVERSITÀ
DI SIENA
1240

DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE, CHIRURGICHE E NEUROSCIENZE

DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA TRASLAZIONALE E DI PRECISIONE

CICLO XXXVIII

Coordinatrice: Prof.ssa Anna Maria Di Giacomo

Bridging Tumor Biology and Clinical Outcomes in Locally Advanced and Oligometastatic Gastric Cancer: Molecular and Histopathological Biomarkers in the Multimodal Treatment Setting

Settore scientifico disciplinare: MED/18 – Chirurgia generale

Candidata
Dott.ssa Stefania Angela Piccioni
Università di Siena

Supervisore
Prof. Daniele Marrelli
Università di Siena

ANNO ACCADEMICO: 2024/2025

INDICE

1) Introduzione **2**
1.1 Epidemiologia del carcinoma gastrico 2
1.2 Fattori di rischio del carcinoma gastrico 2
1.3 Classificazione del carcinoma gastrico 3
1.4 Sistema di stadiazione TNM (AJCC, 8ª edizione) 6
1.5 Diagnosi e stadiazione iniziale 8
1.6 Classificazione molecolare del carcinoma gastrico 10
1.7 Trattamento del carcinoma gastrico 15
1.8 Gruppo multidisciplinare oncologico 16
1.9 Trattamento endoscopico e chirurgico 16
1.10 Terapia neoadiuvante 18
1.11 Follow-up 19
1.12 Trattamento della malattia avanzata 20
1.13 Trattamenti locoregionali 21
2) Scopo dello studio **24**
3) Materiali e metodi **25**
3.1 Disegno dello studio e setting 25
3.2 Stadiazione 25
3.3 Protocollo chemioterapico 26
3.4 Imaging 26
3.5 Intervento chirurgico 27
3.6 Patologia 28
3.7 Follow-up 32
3.8 Analisi statistica 32
4) Risultati **33**
4.1 Caratteristiche clinico-patologiche della popolazione in studio 33
4.2 Dati istopatologici e molecolari 37
4.3 Outcome di sopravvivenza 48
5) Discussione **53**
6) Bibliografia **59**

1. INTRODUZIONE

Epidemiologia del carcinoma gastrico

Il carcinoma gastrico continua a rappresentare un importante problema di salute pubblica a livello mondiale, collocandosi al quinto posto sia per incidenza sia per mortalità oncologica, con circa 968.000 nuovi casi e 660.000 decessi registrati nel 2022 [1–3]. La distribuzione della malattia non è uniforme nel mondo, ma presenta marcate differenze geografiche. Le aree a più alta incidenza comprendono soprattutto l'Asia orientale, in particolare Giappone, Corea del Sud e Cina, ma anche l'Europa orientale e alcune regioni del Sud America; al contrario, il Nord America e l'Europa settentrionale presentano tassi significativamente più bassi [1–2].

In Italia, il carcinoma gastrico presenta un'incidenza intermedia rispetto alle aree geografiche ad alto rischio, ma conserva una rilevanza clinica significativa. Secondo il rapporto "I numeri del cancro in Italia 2024", nel 2024 sono state stimate circa 14.100 nuove diagnosi di tumore dello stomaco, nell'ambito di circa 390.100 nuove diagnosi oncologiche complessive nel Paese [4]. Nonostante la progressiva riduzione dell'incidenza osservata nei Paesi occidentali, la malattia mantiene quindi un impatto rilevante, anche in ragione della frequente diagnosi in stadio localmente avanzato o metastatico e della prognosi ancora sfavorevole nelle forme avanzate [5].

Fattori di rischio del carcinoma gastrico

Il carcinoma gastrico è una neoplasia a eziologia multifattoriale, il cui sviluppo deriva dall'interazione tra fattori ambientali, infettivi, individuali e genetici. Tra i principali fattori non modificabili rientrano l'età avanzata e il sesso maschile, mentre l'incidenza della malattia risulta influenzata anche dall'area geografica di provenienza e dal contesto socioeconomico [2,6–7].

Tra i fattori modificabili, l'infezione da Helicobacter pylori rappresenta il principale determinante del carcinoma gastrico non cardiale e svolge un ruolo centrale nella cascata della carcinogenesi gastrica [1–3,8–10]. Anche le abitudini alimentari hanno un peso rilevante: un elevato consumo di sale e di alimenti conservati o affumicati è associato a un aumento del rischio, mentre una dieta ricca di frutta e verdura sembra avere un effetto protettivo [9–11]. Ulteriori fattori associati comprendono il fumo di sigaretta, il consumo elevato di alcol e l'obesità. [3,8–10].

Una quota limitata ma clinicamente rilevante dei carcinomi gastrici è legata a una predisposizione ereditaria, stimata intorno all'1–3% dei casi [1–2,6,12–13]. In questo contesto, la sindrome del carcinoma gastrico diffuso ereditario rappresenta la condizione più rilevante ed è associata soprattutto a mutazioni germinali di CDH1, più raramente di CTNNA1 [14–17]. Si tratta di una sindrome a trasmissione autosomica dominante, associata a un aumentato rischio di carcinoma gastrico diffuso e di carcinoma lobulare della mammella [14–17]. Altre sindromi ereditarie associate a un incremento del rischio comprendono la sindrome di Lynch, la poliposi adenomatosa familiare, la sindrome di Peutz-Jeghers e la sindrome di Li-Fraumeni [6,12–14,18].

Le evidenze più recenti hanno inoltre ampliato lo spettro clinico associato alle alterazioni di CDH1, mostrando come in alcuni casi il carcinoma lobulare mammario possa rappresentare la prima manifestazione della sindrome anche in assenza di una storia familiare tipica di carcinoma gastrico [17,19]. Sul piano biologico, la perdita funzionale di E-caderina richiede spesso ulteriori eventi genetici o epigenetici, che contribuiscono alla progressione neoplastica [20].

Classificazione del Carcinoma Gastrico

Gli adenocarcinomi costituiscono la grande maggioranza delle neoplasie gastriche, rappresentando circa il 90–95% dei casi, mentre linfomi, tumori mesenchimali e altre neoplasie sono molto meno frequenti [1–2].

Tra i sistemi istologici disponibili, la classificazione proposta da Lauren nel 1965 rimane la più utilizzata nella pratica clinica e nella letteratura scientifica. Essa distingue il carcinoma gastrico in tre principali categorie: tipo intestinale, tipo diffuso e tipo misto/indeterminato (Figura 1) [1,21–22].

Il tipo intestinale è generalmente il più frequente ed è caratterizzato da cellule neoplastiche coese, organizzate in strutture ghiandolari o tubulari che richiamano, almeno in parte, l'epitelio intestinale. Questo istotipo è classicamente associato all'infezione da Helicobacter pylori, alla gastrite atrofica e alla metaplasia intestinale [1–2,21].

Il tipo diffuso, invece, è costituito da cellule scarsamente coese, spesso infiltranti singolarmente o in piccoli gruppi, con tendenza alla diffusione nella parete gastrica. Questo fenotipo è frequentemente associato ad alterazioni delle molecole di adesione cellulare, in particolare dell'E-caderina, ed è correlato a un comportamento biologico più infiltrativo e a una più precoce diffusione peritoneale [1–2,21].

Accanto a questi due gruppi principali, una quota variabile di tumori presenta caratteristiche intermedie o sovrapposte ed è pertanto classificata come mista o indeterminata [2,23].

Nel tempo, la distribuzione dei sottotipi istologici sembra essersi modificata: nei Paesi sviluppati, la riduzione della prevalenza dell'infezione da H. pylori si è accompagnata soprattutto a una diminuzione dei tumori di tipo intestinale, mentre il tipo diffuso ha mostrato un andamento relativamente più stabile [1].

Oltre alla classificazione di Lauren, sono stati proposti numerosi altri sistemi classificativi, tra cui quello dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO), che descrive in modo più dettagliato i diversi pattern morfologici dell'adenocarcinoma gastrico (Figura 2). La coesistenza di sistemi diversi, occidentali e orientali, ha tuttavia generato nel tempo una certa eterogeneità terminologica, rendendo talvolta difficile il confronto diretto tra studi [21,24].

Particolare attenzione è stata rivolta negli ultimi anni ai carcinomi gastrici scarsamente coesi (poorly cohesive carcinomas), che comprendono anche le neoplasie con cellule ad anello con castone (signet ring cells, SRC). In seguito al consenso europeo promosso dall'IGCA, questi tumori sono stati suddivisi in tre sottogruppi in base alla percentuale di SRC presenti (Figura 3): SRCC puro, quando le SRC rappresentano più del 90% del tumore; PC-NOS/SRC, quando la quota di SRC è compresa tra 10% e 90%; e PC-NOS, quando le SRC sono inferiori al 10% [25–27].

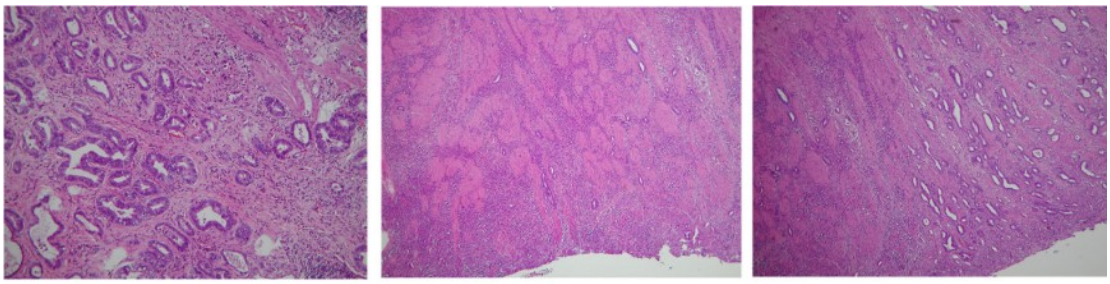


Figura 1. Pattern istologici della classificazione di Lauren: tipo intestinale, tipo diffuso e carcinoma gastrico di tipo misto [13]

Laurén (1965)	Nakamura (1968)	WHO (2010)		Japanese classification (2017)	
Intestinal	Differentiated	Common type:	Papillary Tubular	Common type	Papillary: pap Tubular 1 (well-differentiated): tub1 Tubular 2 (moderately differentiated): tub2
Intestinal/diffuse	Differentiated/ undifferentiated	Common type:	Mucinous	Common type	Mucinous
Diffuse	Undifferentiated	Common type:	Poorly cohesive, SRC phenotype Poorly cohesive, other cell types	Common type	SRC carcinoma: sig Poorly 2 (non-solid type): por2
Mixed	Undifferentiated	Common type:	Mixed		Description according to the proportion (*e.g.* por2 > sig > tub2)
Indeterminate	Undifferentiated	Common type:	Poorly differentiated tubular (solid) carcinoma	Common type:	Poorly 1 (solid type): por1
		Special type:	Undifferentiated carcinoma	Special type:	Undifferentiated carcinoma

Figura 2. Classificazioni istologiche del CG a confronto. Da Mariette et al. [10]

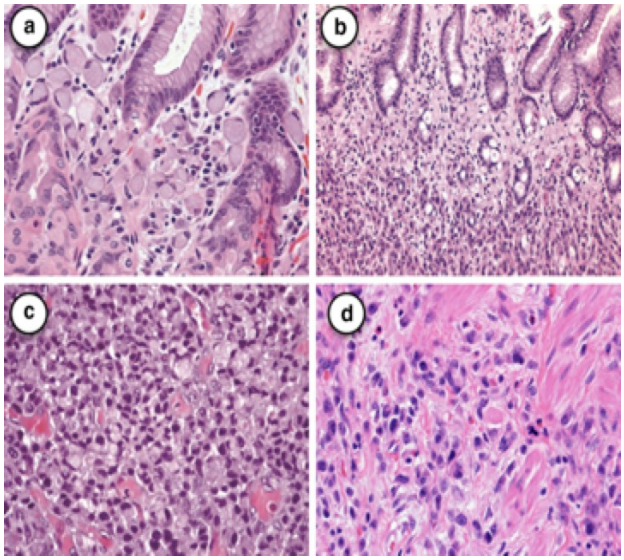


Figura 3. Esempi istologici di carcinoma gastrico scarsamente coeso. a) SRC puro (>90% cellule ad anello con castone); b–c) forme miste PC-NOS/SRC (10–90% SRC); d) PC-NOS (<10% SRC). Da Mariette et al. [10].

Sistema di stadiazione TNM (AJCC, 8ª edizione)

Il sistema di stadiazione più utilizzato per il carcinoma gastrico è quello sviluppato dall'American Joint Committee on Cancer (AJCC), attualmente adottato nella sua 8ª edizione [28–30]. Tale sistema si fonda

su tre parametri principali: estensione del tumore primitivo (T), coinvolgimento dei linfonodi regionali (N) e presenza di metastasi a distanza (M) [28]. Le definizioni dei singoli parametri T, N e M sono riportate in Tabella 1.

Il parametro T descrive la profondità di invasione della parete gastrica e delle strutture circostanti. In particolare, il carcinoma può essere confinato alla mucosa o sottomucosa (T1), estendersi alla muscolaris propria (T2), alla sottosierosa (T3) oppure interessare il peritoneo viscerale (T4a) o le strutture adiacenti (T4b). Il parametro N definisce l'entità del coinvolgimento linfonodale regionale in base al numero di linfonodi metastatici, variando da N0 (assenza di metastasi linfonodali) a N3b (coinvolgimento di 16 o più linfonodi regionali). Il parametro M distingue i casi senza metastasi a distanza (M0) da quelli con metastasi a distanza (M1).

Le combinazioni dei parametri T, N e M consentono il raggruppamento prognostico finale in stadi da 0 a IV, come riportato in Tabella 2.

In base alla profondità di invasione e all'estensione di malattia, il carcinoma gastrico può essere distinto in Early Gastric Cancer (EGC), malattia localmente avanzata e malattia avanzata/metastatica. L'EGC è definito come un tumore confinato alla mucosa (T1a) o alla sottomucosa (T1b), indipendentemente dalla presenza di metastasi linfonodali [31–33]. In questa fase la malattia è generalmente suscettibile di trattamento curativo endoscopico o chirurgico, con prognosi spesso favorevole nei casi selezionati. La malattia localmente avanzata comprende invece i tumori che superano la sottomucosa e/o presentano coinvolgimento linfonodale regionale, in assenza di metastasi a distanza; in questi casi, il trattamento richiede di norma un approccio multimodale. Infine, si definisce malattia avanzata quella metastatica o non resecabile, nella quale l'obiettivo terapeutico è prevalentemente il controllo sistemico della malattia e il prolungamento della sopravvivenza [31–32,34].

T (Tumore primitivo)	**Descrizione**
Tis	Carcinoma in situ, confinato all'epitelio senza invasione della lamina propria

T1	Invasione della lamina propria, della muscolaris mucosae o della sottomucosa
T1a	Invasione della lamina propria o della muscolaris mucosae
T1b	Invasione della sottomucosa
T2	Invasione della muscolaris propria
T3	Invasione della sottosierosa, senza interessamento del peritoneo viscerale o di strutture adiacenti
T4	Invasione del peritoneo viscerale o di strutture adiacenti
T4a	Invasione del peritoneo viscerale (sierosa)
T4b	Invasione di strutture o organi adiacenti (es. pancreas, fegato, colon, diaframma)

N (Linfonodi regionali)	**Descrizione**
N0	Nessuna metastasi linfonodale regionale
N1	Metastasi in 1–2 linfonodi regionali
N2	Metastasi in 3–6 linfonodi regionali
N3	Metastasi in 7 o più linfonodi regionali
N3a	Metastasi in 7–15 linfonodi regionali
N3b	Metastasi in 16 o più linfonodi regionali

M (Metastasi a distanza)	**Descrizione**
M0	Assenza di metastasi a distanza

M1	Presenza di metastasi a distanza

Tabella 1. Definizione dei parametri TNM delle neoplasie gastriche secondo AJCC, 8ª edizione

Stadio AJCC	**Raggruppamento prognostico**
0	Tis N0 M0
IA	T1 N0 M0
IB	T1 N1 M0; T2 N0 M0
IIA	T1 N2 M0; T2 N1 M0; T3 N0 M0
IIB	T1 N3a M0; T2 N2 M0; T3 N1 M0; T4a N0 M0
IIIA	T2 N3a M0; T3 N2 M0; T4a N1 M0; T4b N0 M0
IIIB	T1 N3b M0; T2 N3b M0; T3 N3a M0; T4a N2 M0; T4b N1 M0
IIIC	T3 N3b M0; T4a N3a M0; T4b N2 M0; T4b N3b M0
IV	Qualsiasi T, qualsiasi N, M1

Tabella 2. Raggruppamento prognostico delle neoplasie gastriche secondo AJCC, 8ª edizione

Diagnosi

Nei Paesi occidentali, in assenza di programmi di screening su larga scala, il carcinoma gastrico viene spesso diagnosticato in stadio localmente avanzato o metastatico, generalmente dopo la comparsa di sintomi clinici [2]. I sintomi più frequenti all'esordio comprendono astenia, calo ponderale, dolore addominale, nausea, anoressia e disfagia; l'anemia sideropenica rappresenta inoltre un reperto relativamente frequente alla diagnosi, spesso correlato a sanguinamento cronico occulto [2]. La diagnosi di carcinoma gastrico si basa sull'esofagogastroduodenoscopia (EGDS) con esecuzione di biopsie multiple della lesione sospetta. L'esame endoscopico consente la visualizzazione diretta della mucosa gastrica, la definizione macroscopica della sede e dell'estensione della lesione e il prelievo di campioni

tissutali per la conferma istologica. L'analisi anatomopatologica delle biopsie permette di definire l'istotipo tumorale e, nei casi indicati, di avviare la caratterizzazione biomolecolare iniziale [28,35]. Una volta posta la diagnosi istologica, il completamento della stadiazione pre-trattamento si basa innanzitutto sull'esecuzione di una TC torace-addome-pelvi con mezzo di contrasto. La TC rappresenta l'esame radiologico di riferimento per valutare l'estensione locoregionale della neoplasia, il sospetto coinvolgimento linfonodale e l'eventuale presenza di metastasi a distanza, fornendo le informazioni necessarie per una prima definizione della resecabilità e dell'estensione di malattia [28,35–36]. Per una valutazione adeguata, l'esame dovrebbe essere eseguito con acquisizioni a strato sottile, somministrazione di mezzo di contrasto iodato endovenoso e adeguata distensione gastrica, così da migliorare la definizione della parete gastrica e dei rapporti con le strutture circostanti [36]. I dati clinici, endoscopici, istologici, laboratoristici e radiologici vengono quindi integrati nell'ambito di una valutazione multidisciplinare, finalizzata a definire lo stadio clinico, la strategia terapeutica più appropriata e l'eventuale necessità di ulteriori approfondimenti. In casi selezionati, soprattutto quando sia necessario precisare la profondità di invasione parietale o valutare lesioni potenzialmente precoci, può essere indicata l'ecoendoscopia; nei pazienti con malattia localmente avanzata apparentemente resecabile, in particolare in presenza di tumori cT3–T4, cN+, istotipo diffuso o sospetto clinico-radiologico di diffusione peritoneale, può essere indicata la laparoscopia di stadiazione con washing peritoneale [28,35–37]. La laparoscopia consente l'ispezione diretta della cavità peritoneale e il prelievo di liquido per esame citologico, permettendo di identificare una malattia peritoneale macroscopica o microscopica non rilevabile all'imaging; una citologia peritoneale positiva viene infatti classificata come malattia metastatica, anche in assenza di metastasi macroscopiche evidenti [1,28]. Alla stadiazione clinico-strumentale si affianca la caratterizzazione biomolecolare, sempre più rilevante per la definizione prognostica e terapeutica. La valutazione di MSI/dMMR e PD-L1 è raccomandata alla diagnosi, mentre HER2 e CLDN18.2 assumono particolare importanza nei pazienti con malattia avanzata o metastatica, nei quali possono guidare l'impiego di terapie target o strategie biomarker-driven [28].

Classificazione molecolare

La caratterizzazione molecolare del carcinoma gastrico ha profondamente ampliato la comprensione della sua eterogeneità biologica, consentendo di identificare sottogruppi distinti per caratteristiche

patogenetiche, comportamento clinico e potenziali implicazioni terapeutiche [1–2,38]. Nel 2014, The Cancer Genome Atlas (TCGA) ha proposto una classificazione molecolare del carcinoma gastrico basata su analisi genomiche integrate, distinguendo quattro principali sottotipi (figura 4): EBV-positivo, MSI, genomicamente stabile (GS) e con instabilità cromosomica (CIN) [1–2,38].

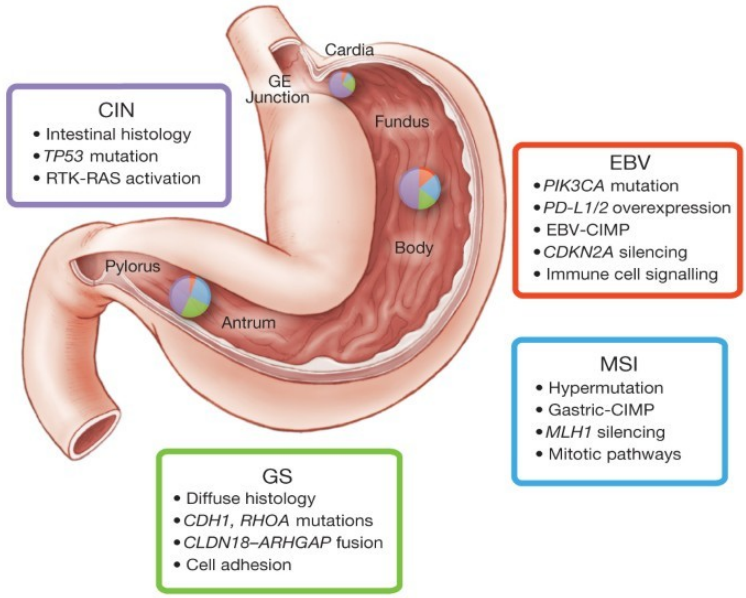


Figura 4: Classificazione molecolare del cancro gastrico [38]

Il sottotipo EBV-positivo rappresenta una quota minoritaria dei casi ed è caratterizzato dalla presenza del virus di Epstein-Barr, da marcata ipermetilazione del DNA e da frequenti alterazioni di PIK3CA, ARID1A e BCOR, oltre che da amplificazioni di JAK2, CD274 (PD-L1) e PDCD1LG2 (PD-L2) [1–2,38]. Dal punto di vista clinico, tende a localizzarsi più spesso nel corpo e nel fondo gastrico, interessa più frequentemente soggetti di sesso maschile ed è associato a intensa infiltrazione immunitaria, suggerendo una particolare immunogenicità e un possibile beneficio dalle strategie immunoterapiche [1–2,39].

Il sottotipo MSI è associato a difetti del sistema di mismatch repair del DNA e a elevato carico mutazionale [1–2,38]. Si osserva più spesso in pazienti anziani, con prevalente istotipo intestinale e localizzazione antrale, ed è generalmente correlato a prognosi favorevole e minore tendenza alla recidiva rispetto ad altri sottotipi [40–42]. Inoltre, l'elevata immunogenicità di questi tumori ne supporta la

sensibilità all'immunoterapia, mentre il beneficio della chemioterapia convenzionale appare più variabile [1–2,42].

Il sottotipo genomicamente stabile (GS) è più frequentemente associato all'istotipo diffuso secondo Lauren e a un'età relativamente più giovane alla diagnosi [1–2,38]. È caratterizzato da alterazioni di CDH1 e RHOA, nonché da fusioni che coinvolgono CLDN18-ARHGAP, ed è spesso associato a un fenotipo infiltrativo e a maggiore propensione alla disseminazione peritoneale [1–2,38,40]. In questo gruppo, l'espressione di CLDN18.2 assume particolare interesse come potenziale bersaglio terapeutico [1–2,43–44].

Il sottotipo CIN rappresenta il gruppo più frequente ed è tipicamente associato ai tumori del cardias e della giunzione gastroesofagea [1–2,38]. È caratterizzato da aneuploidia, frequenti alterazioni di TP53 e amplificazioni focali di geni codificanti recettori tirosin-chinasici, tra cui ERBB2/HER2, EGFR, FGFR2, MET e VEGFA [1–2,38]. Per questo motivo, il sottotipo CIN è quello che più spesso include tumori candidabili a strategie terapeutiche target, in particolare anti-HER2 [2,38,45].

Nel 2015, l'Asian Cancer Research Group (ACRG) ha proposto una classificazione alternativa, basata su profili di espressione genica e altre analisi molecolari, identificando quattro sottotipi con diverso significato prognostico: MSI, MSS/EMT, MSS/TP53+ e MSS/TP53− [1,40,46]. Rispetto alla classificazione TCGA, quella ACRG appare più orientata alla stratificazione prognostica [40,46–47].

Il sottotipo MSI dell'ACRG corrisponde sostanzialmente al gruppo MSI descritto dal TCGA ed è associato a prognosi favorevole, diagnosi più frequente negli stadi iniziali e minore tasso di recidiva [40,46–47].

Il sottotipo MSS/EMT, invece, è caratterizzato da marcata attivazione dei programmi di transizione epitelio-mesenchimale, è più spesso associato all'istotipo diffuso, a pazienti più giovani e a una maggiore tendenza alla disseminazione peritoneale; tra i sottotipi ACRG, è quello correlato alla prognosi peggiore [40,46,48].

I gruppi MSS/TP53+ e MSS/TP53− mostrano un comportamento intermedio e presentano alcune sovrapposizioni biologiche rispettivamente con i sottotipi EBV-like e CIN-like, pur non essendo perfettamente equivalenti [40,46–47].

CLDN18.2

La claudina 18 isoforma 2 (CLDN18.2) è una proteina delle tight junction fisiologicamente espressa nella mucosa gastrica, dove contribuisce al mantenimento della barriera epiteliale e della polarità cellulare [1,43–44]. Durante la trasformazione neoplastica, la perdita della polarità rende questo epitopo più accessibile sulla superficie delle cellule tumorali, facendone un potenziale bersaglio terapeutico [43–44]. Essa appare in larga misura indipendente da altri biomarcatori, come HER2, PD-L1 e stato del mismatch repair, e tende a essere arricchita soprattutto nei sottotipi EBV-positivo e genomicamente stabile [1–2,43–44]. Ai fini terapeutici, la positività per CLDN18.2 viene generalmente definita come espressione membranosa moderata o forte (2+ o 3+) in almeno il 75% delle cellule tumorali vitali all'immunoistochimica, secondo il cut-off adottato negli studi registrativi con zolbetuximab [28,43–44]. Nei pazienti con adenocarcinoma gastrico o della giunzione gastroesofagea avanzato, HER2-negativo e CLDN18.2-positivo, zolbetuximab in combinazione con chemioterapia ha dimostrato un miglioramento della disease free survival (DFS) e dell'overall survival (OS) rispetto alla sola chemioterapia negli studi di fase III SPOTLIGHT e GLOW [43,49].

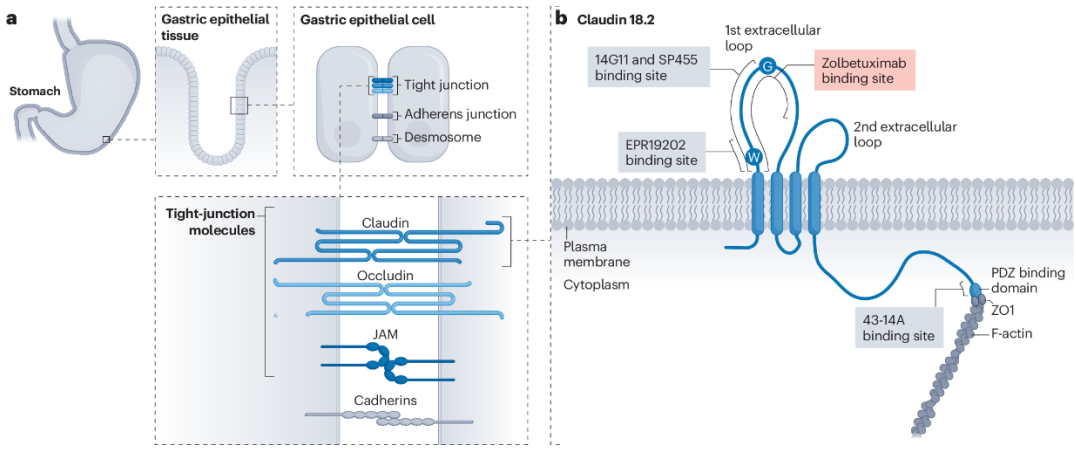


Figura 5. Rappresentazione di CLDN18.2 nelle cellule di carcinoma gastrico e interazione con zolbetuximab [44].

HER2

HER2 (human epidermal growth factor receptor 2), codificato dal gene ERBB2, è un recettore tirosin-chinasico della famiglia EGFR. Nel carcinoma gastrico, l'amplificazione di ERBB2 e/o l'iperespressione della proteina HER2 identificano un sottogruppo biologico caratterizzato dall'attivazione di vie di

segnalazione pro-proliferative e anti-apoptotiche, tra cui le pathway RAS/MAPK e PI3K/AKT [38,50–54]. La positività per HER2 è più frequentemente osservata nei tumori di tipo intestinale secondo Lauren, nelle neoplasie della giunzione gastroesofagea e nei carcinomi appartenenti al sottotipo CIN della classificazione TCGA, nel quale sono frequenti amplificazioni focali di recettori tirosin-chinasici [38]. Dal punto di vista diagnostico, la valutazione di HER2 si basa sull'immunoistochimica, con conferma mediante ibridazione in situ nei casi equivoci, tenendo conto della possibile eterogeneità intratumorale dell'espressione [50–54]. Sul piano clinico, HER2 rappresenta un biomarcatore terapeutico consolidato nella malattia avanzata o metastatica, dove l'associazione di trastuzumab alla chemioterapia ha modificato lo standard di trattamento dei tumori HER2-positivi [50]. Nel setting perioperatorio e neoadiuvante, invece, il significato prognostico e predittivo di HER2 è ancora più complesso e non completamente definito; per questo motivo, la sua valutazione in coorti trattate con chemioterapia preoperatoria può contribuire a chiarire se la positività HER2 identifichi un sottogruppo con diversa sensibilità terapeutica o con peculiare comportamento biologico.

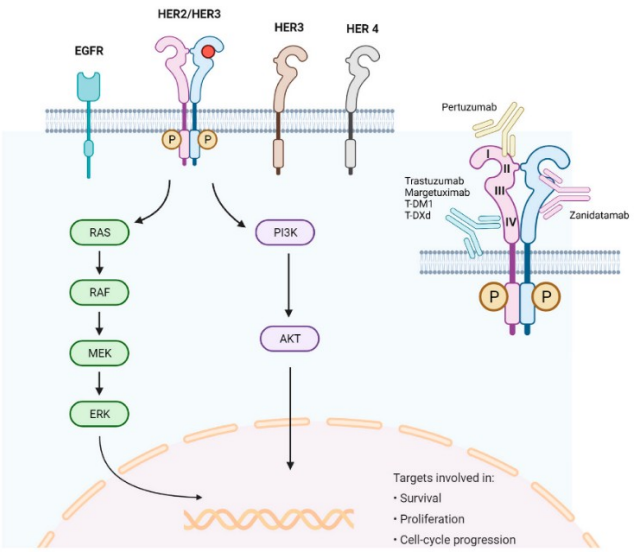


Figura 6. Via di segnalazione di HER2 e principali siti di legame degli anticorpi anti-HER2 [51].

MSI/dMMR

L'instabilità dei microsatelliti (MSI-H) deriva da un difetto del sistema di riparazione del mismatch repair (dMMR), generalmente valutabile mediante immunoistochimica per le proteine MLH1, PMS2, MSH2 e MSH6 oppure mediante analisi molecolare dei loci microsatellitari [38,42,55–57]. I tumori MSI-H sono caratterizzati da elevato carico mutazionale, maggiore immunogenicità e frequente infiltrato linfocitario,

elementi che spiegano almeno in parte la prognosi generalmente favorevole e la sensibilità agli immune checkpoint inhibitors [38,40,42]. Nel carcinoma gastrico, questo sottogruppo è più spesso associato a età avanzata, istotipo intestinale, localizzazione distale/antrale, minore coinvolgimento linfonodale e ridotto rischio di recidiva rispetto ai tumori microsatellite-stable (MSS) [40,42,55]. Il ruolo di MSI nel contesto della chemioterapia perioperatoria rimane tuttavia peculiare: diverse evidenze suggeriscono che i tumori MSI-H/dMMR possano trarre un beneficio inferiore dalla chemioterapia convenzionale fluoropirimidina-platino rispetto ai tumori MSS, pur mantenendo una prognosi complessivamente migliore [42]. Per tale motivo, la determinazione precoce dello status MSI/dMMR alla diagnosi assume oggi un valore non solo prognostico, ma anche predittivo e strategico nella definizione del percorso terapeutico, soprattutto alla luce del crescente impiego dell'immunoterapia nel setting avanzato e, più recentemente, in quello perioperatorio.

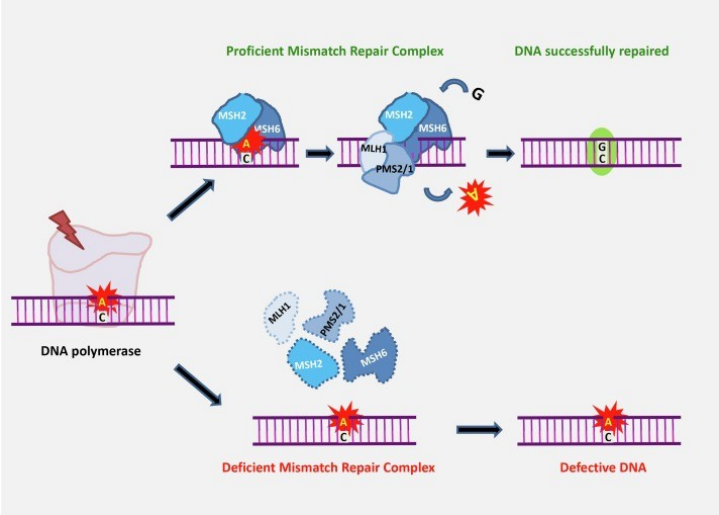


Figura 7. Meccanismo d'azione del sistema di mismatch repair e sviluppo dell'instabilità dei microsatelliti [56].

Transizione epitelio-mesenchimale (EMT)

L'EMT rappresenta un programma biologico dinamico attraverso il quale le cellule epiteliali perdono progressivamente polarità e adesione intercellulare, acquisendo proprietà migratorie, invasive e di adattamento allo stress [58–60]. Più che un evento binario, l'EMT è oggi considerata uno spettro di stati intermedi o ibridi, che possono conferire alle cellule tumorali particolare plasticità biologica [59–61]. Nel carcinoma gastrico, l'attivazione dell'EMT è caratterizzata dalla riduzione dei marker epiteliali, in particolare E-caderina, e dall'aumento di marker mesenchimali come vimentina, N-caderina e

fibronectina [59–60,62]. Tale fenotipo molecolare è strettamente associato all'istotipo diffuso secondo Lauren e al sottotipo MSS/EMT della classificazione ACRG [40,63–64]. Dal punto di vista clinico, i tumori con marcata attivazione EMT mostrano un comportamento più aggressivo, con maggiore profondità di invasione, più elevata frequenza di metastasi linfonodali e disseminazione peritoneale, oltre a una prognosi generalmente sfavorevole [59,63,65–66]. Inoltre, l'attivazione dei programmi EMT si associa spesso a un microambiente tumorale più stromale e immunosoppressivo, che può contribuire alla resistenza terapeutica, in particolare nei confronti della chemioterapia [59,61,65].

Trattamento

Il trattamento del carcinoma gastrico dipende principalmente dallo stadio di malattia al momento della diagnosi, oltre che dalle caratteristiche biologiche del tumore e dalle condizioni cliniche del paziente.

L'intervento chirurgico rappresenta la principale opzione terapeutica ad intento curativo per il GC resecabile.[1,28,31] La prognosi è significativamente migliore per le neoplasie diagnosticate in stadi precoci (stadio I), mentre per le forme localmente avanzate i tassi di sopravvivenza sono più bassi.[31]. Per i pazienti con malattia localmente avanzata (cT2 o superiore, qualsiasi N), le linee guida europee raccomandano il trattamento neoadivante/perioperatorio con chemioterapia o chemio-immunoterapia seguito da chirurgia radicale, rispetto alla chirurgia upfront.[1–2]. La chemioterapia adiuvante è indicata dopo l'intervento chirurgico in base allo stadio patologico e ai fattori prognostici [2,28]. Sono stati inoltre sviluppati trattamenti locoregionali di chemioterapia intraperitoneale (HIPEC, PIPAC) per il trattamento della carcinosi peritoneale, sebbene il loro ruolo rimanga ad oggi oggetto di studio.[1]. Negli ultimi anni le terapie target (anti-HER2, anti-CLDN18.2) e l'immunoterapia (anti-PD-1/PD-L1) hanno assunto un ruolo rilevante nel trattamento del carcinoma gastrico avanzato, aprendo la strada ad approcci di precision medicine.[1–2]

Gruppo Multidisciplinare Oncologico

La gestione del carcinoma gastrico richiede un approccio multidisciplinare strutturato, in grado di integrare competenze cliniche, chirurgiche, endoscopiche, radiologiche, patologiche e oncologiche. La

discussione collegiale del caso rappresenta un passaggio fondamentale sia nella stadiazione sia nella pianificazione terapeutica, poiché consente di definire in modo condiviso la strategia più appropriata in base allo stadio di malattia, alle caratteristiche biologiche del tumore, alla resecabilità e alle condizioni generali del paziente. In questo contesto, il coinvolgimento coordinato di chirurgo, oncologo medico, immunoterapista, gastroenterologo, radiologo, anatomopatologo, nutrizionista e, quando indicato, radioterapista, genetista e palliativista, contribuisce a ottimizzare il percorso diagnostico-terapeutico e a garantire una gestione più personalizzata e appropriata.

Trattamento endoscopico e chirurgico

Il trattamento endoscopico trova indicazione nei tumori gastrici precoci selezionati, caratterizzati da un basso rischio di metastasi linfonodali e da caratteristiche tecniche favorevoli a una resezione en bloc [28,31,67]. In particolare sono candidabili a resezione endoscopica i carcinomi cT1a limitati alla mucosa, in assenza di invasione linfovascolare e di sospetto coinvolgimento linfonodale, soprattutto quando si tratti di adenocarcinomi ben o moderatamente differenziati di piccole dimensioni [28,31,68]. In questo contesto, la dissezione sottomucosa endoscopica (ESD) è generalmente preferita rispetto alla resezione mucosale endoscopica (EMR), soprattutto per lesioni di dimensioni maggiori, poiché consente più frequentemente una resezione en bloc, con migliori tassi di radicalità e minore rischio di recidiva locale [67–69]. Nei tumori non suscettibili di trattamento endoscopico, la chirurgia rappresenta il cardine del trattamento curativo. La gastrectomia totale o subtotale con linfadenectomia costituisce infatti il trattamento di riferimento per il carcinoma gastrico localizzato, purché sia ottenibile una resezione completa (R0) [28,31]. La scelta tra gastrectomia totale e subtotale dipende principalmente dalla sede della neoplasia e dalla possibilità di garantire margini di resezione adeguati [31]. In questo contesto, le linee guida raccomandano di ottenere margini macroscopici differenziati in base al pattern di crescita: è indicato un margine prossimale di almeno 3 cm nei tumori a crescita espansiva, più frequentemente intestinali, e di almeno 5 cm nei tumori a crescita infiltrativa, più spesso diffusi.[31,70–72]. Quando tali distanze non siano chiaramente ottenibili, è indicato il controllo intraoperatorio estemporaneo del margine di resezione [71–72]. Un elemento fondamentale della chirurgia gastrica oncologica è la linfadenectomia, che deve accompagnare la resezione gastrica. Attualmente, la linfadenectomia D2 è considerata lo standard di cura nei centri ad alto volume ed esperienza, in quanto consente una stadiazione

più accurata e un migliore controllo locoregionale della malattia [1,28,31,73]. Per una corretta stadiazione patologica è raccomandato l'esame di almeno 16 linfonodi [28,31].

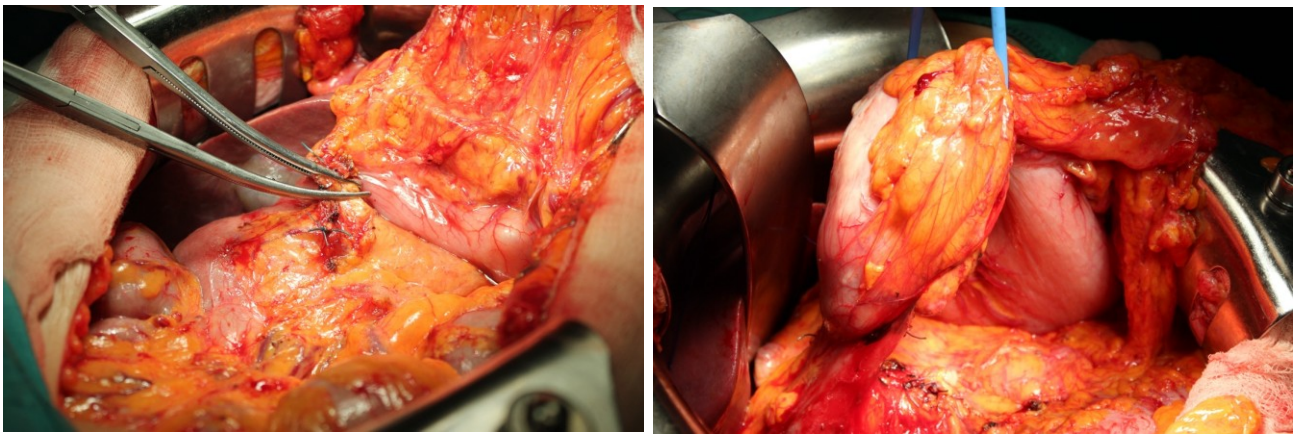


Figura 8. Tempi di intervento chirurgico di gastrectomia. Foto tratte da casistica interna dell'U.O.C. di Chirurgia Generale, Azienda Ospedaliero-Universitaria Senese.

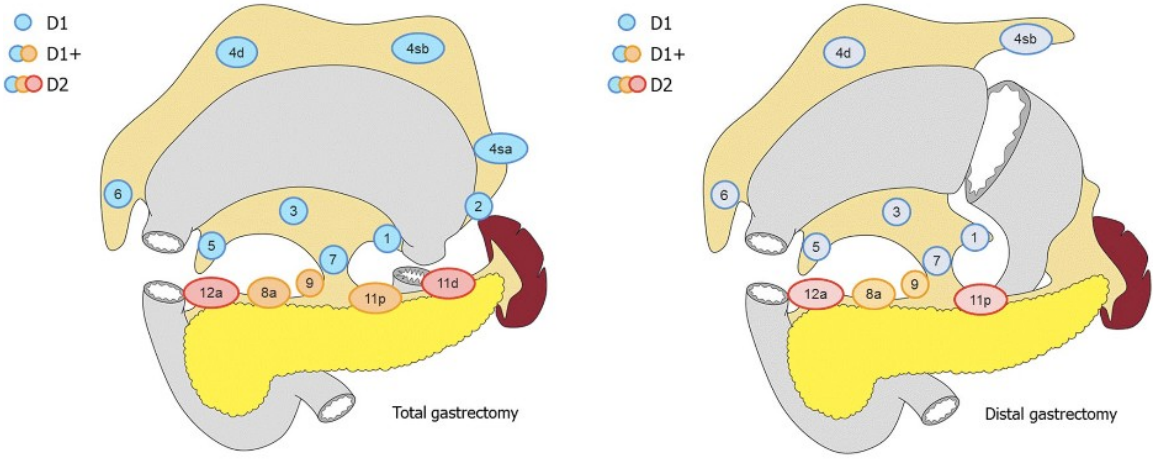


Figura 9. Linfadenectomia in corso di gastrectomia totale (a sinistra) e di gastrectomia subtotale (a destra)

Terapia Neoadiuvante

Nelle neoplasie gastriche localmente avanzate (≥cT2 e/o cN+), la terapia sistemica preoperatoria rappresenta uno dei cardini del trattamento nei Paesi occidentali [1,31]. L'obiettivo è aumentare la probabilità di resezione R0, trattare precocemente eventuali micrometastasi occulte e ridurre il rischio di recidiva postoperatoria [1,74]. In questo contesto, la chemioterapia perioperatoria costituisce attualmente lo standard di cura, e il regime FLOT (5-fluorouracile, leucovorina, oxaliplatino e docetaxel) rappresenta

il riferimento principale secondo le linee guida europee e nordamericane [2,28]. Nel trial FLOT4, il trattamento perioperatorio con FLOT ha dimostrato un vantaggio significativo rispetto a ECF/ECX in termini di sopravvivenza globale mediana (50 vs 35 mesi; HR 0,77) e di tasso di resezione R0 (85% vs 78%) [96]. L'approccio perioperatorio, tuttavia, presenta il limite che una quota non trascurabile di pazienti non riesce a completare il trattamento postoperatorio programmato, soprattutto per tossicità, decadimento clinico o progressione di malattia [74–75]. Per questo motivo, la fase preoperatoria riveste un'importanza strategica e, nei pazienti non candidabili a FLOT, possono essere impiegati schemi a due farmaci contenenti fluoropirimidina e oxaliplatino [28]. Nei Paesi asiatici, invece, la strategia tradizionalmente più diffusa rimane quella della chirurgia con linfoadenectomia D2 seguita da terapia adiuvante, sebbene studi più recenti abbiano aperto anche in quel contesto alla possibilità di approcci perioperatori in sottogruppi selezionati [1,76].

Negli ultimi anni, l'immunoterapia ha iniziato a entrare anche nel setting perioperatorio. In particolare, il trial MATTERHORN ha mostrato che l'aggiunta di durvalumab a FLOT migliora significativamente la disease-free survival rispetto alla sola chemioterapia perioperatoria (HR 0,71) nei pazienti con adenocarcinoma gastrico o della giunzione gastroesofagea resecabile [100]. Nei tumori MSI-H/dMMR, l'interesse per l'immunoterapia neoadiuvante è ancora maggiore: nello studio NEONIPIGA, il trattamento con nivolumab più ipilimumab ha determinato un'elevata percentuale di risposta patologica completa (CR) nei pazienti con malattia resecabile [97]. La radioterapia ha invece un ruolo più limitato. I dati dello studio TOPGEAR hanno mostrato che l'aggiunta della chemioradioterapia preoperatoria alla chemioterapia perioperatoria aumenta la risposta patologica, ma non si traduce in un chiaro beneficio di sopravvivenza globale; di conseguenza, la chemioradioterapia non è raccomandata di routine nei pazienti con carcinoma gastrico resecabile, mentre può mantenere un ruolo selettivo in ambito postoperatorio nei casi sottoposti a resezione non ottimale o non trattati preoperatoriamente [2,28,75].

Dopo il trattamento preoperatorio, il restaging è fondamentale per confermare la resecabilità e rivalutare l'estensione di malattia. Esso si basa principalmente sulla TC torace-addome-pelvi con mezzo di contrasto, integrata nei casi selezionati da valutazione endoscopica con biopsie [28,77]. La risposta patologica al trattamento viene poi valutata sul pezzo operatorio mediante tumor regression grade, e lo score di Becker è uno dei sistemi più utilizzati: esso distingue una risposta completa (grado 1a), una risposta subtotale (1b), una risposta parziale (grado 2) e una risposta minima o assente (grado 3) [28,78–79].



Figura 10. Esempio di regressione dopo terapia neoadiuvante; immagini TC prima e dopo NAC. Immagine tratta da casistica interna dell'U.O.C. di Radiologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria Senese.

Follow up

Dopo trattamento curativo, il follow-up del carcinoma gastrico deve essere modulato in base allo stadio di malattia e al rischio individuale di recidiva. Nei primi anni dopo la chirurgia, la sorveglianza oncologica si basa soprattutto sulla valutazione clinica, i markers sierologici e sull'imaging tomografico, con particolare attenzione ai primi 3 anni, durante i quali si concentra la maggior parte delle recidive [80–82]. L'endoscopia può essere eseguita con cadenza annuale nei primi anni soprattutto nei pazienti sottoposti a resezione endoscopica o nei casi in cui sia presente uno stomaco residuo da monitorare [81,83–84]. Oltre al follow-up oncologico, è raccomandato un monitoraggio a lungo termine delle sequele nutrizionali della gastrectomia [81]

Trattamento della malattia avanzata

Nel carcinoma gastrico localmente avanzato non resecabile, metastatico o recidivante, la terapia sistemica rappresenta il trattamento di riferimento, con l'obiettivo di controllare la malattia, prolungare la sopravvivenza e preservare la qualità di vita [1–2,28]. All'interno della malattia metastatica, tuttavia, il concetto di malattia oligometastatica identifica un sottogruppo selezionato di pazienti con carico metastatico limitato e potenzialmente suscettibile di strategie multimodali. Nel carcinoma gastrico non

esiste una definizione universalmente condivisa di oligometastasi; tuttavia, recenti proposte di consenso suggeriscono di considerarla non solo come una condizione anatomico-quantitativa, definita dal numero e dalla sede limitata delle metastasi, ma anche come una condizione dinamica, rivalutabile dopo terapia sistemica sulla base della risposta o della stabilità di malattia. In ambito italiano, ad esempio, il Gruppo Italiano di Ricerca sul Cancro Gastrico, nell'ambito della Consensus Conference di Bertinoro, ha sottolineato l'importanza di una valutazione multidisciplinare che integri carico metastatico, risposta alla terapia sistemica e possibilità di ottenere una resezione completa o un controllo radicale della malattia macroscopica [85–86].

In questo contesto si inserisce il concetto di conversion surgery, intesa come chirurgia eseguita in pazienti inizialmente considerati non resecabili o metastatici, nei quali la terapia sistemica consente una regressione o una stabilizzazione della malattia tale da rendere possibile un trattamento chirurgico con intento radicale. Tale approccio non rappresenta uno standard generalizzabile, ma può essere discusso in pazienti altamente selezionati, dopo rivalutazione multidisciplinare, quando sia tecnicamente ottenibile una resezione completa della malattia macroscopica e in assenza di progressione sistemica diffusa [85,87].

In questo setting, la scelta della prima linea terapeutica deve essere guidata dalla caratterizzazione biomolecolare del tumore, in particolare mediante valutazione di HER2, PD-L1, MSI/dMMR e CLDN18.2, che consentono una sempre più precisa personalizzazione del trattamento [1,28]. Nei tumori HER2-positivi, il backbone terapeutico resta rappresentato da trastuzumab associato a chemioterapia, con possibile aggiunta di pembrolizumab nei casi eleggibili, sulla base dei risultati del trial KEYNOTE-811 e delle più recenti raccomandazioni [2,28]. Nei tumori HER2-negativi e CLDN18.2-positivi, zolbetuximab in combinazione con chemioterapia ha dimostrato un beneficio significativo in termini di sopravvivenza negli studi SPOTLIGHT e GLOW [43,49,88]. Nei tumori MSI-H/dMMR, l'immunoterapia rappresenta un'opzione particolarmente efficace, anche in monoterapia o in combinazione, mentre nei tumori privi di biomarcatori target la prima linea si basa generalmente su combinazioni di fluoropirimidina e platino associate, nei pazienti selezionati, a immunoterapia [1–2,28].

Dopo progressione alla prima linea, il trattamento di seconda linea dipende dalle condizioni cliniche del paziente, dai trattamenti già ricevuti e dal profilo molecolare della neoplasia. Tra le opzioni validate,

ramucirumab più paclitaxel rappresenta uno degli standard più consolidati, mentre trastuzumab deruxtecan costituisce un'opzione di particolare rilievo nei tumori HER2-positivi già trattati con trastuzumab [1,28]. Nonostante i progressi delle strategie multimodali, la recidiva dopo trattamento curativo rimane frequente, soprattutto nei pazienti con malattia biologicamente più aggressiva o con risposta incompleta alla terapia preoperatoria [1,28]. In caso di recidiva locoregionale isolata o di malattia oligometastatica responsiva alla terapia sistemica, una nuova valutazione multidisciplinare può identificare pazienti selezionati candidabili a trattamenti locali o chirurgici, con l'obiettivo di ottenere una resezione completa o un controllo radicale della malattia macroscopica quando tecnicamente e oncologicamente fattibile [85,87]. Più spesso, tuttavia, nella gestione della malattia metastatica o recidivante l'unico trattamento indicato rimane quello sistemico [1,28].

Trattamenti loco regionali

Nel contesto della carcinosi peritoneale da carcinoma gastrico, i trattamenti locoregionali rappresentano strategie da considerare in pazienti altamente selezionati, nell'ambito di una valutazione multidisciplinare e preferibilmente in centri ad alta esperienza. La HIPEC (hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, chemioterapia intraperitoneale ipertermica) consiste nella somministrazione intraoperatoria di chemioterapico riscaldato all'interno della cavità peritoneale, generalmente dopo citoriduzione, con l'obiettivo di aumentare l'esposizione locale del farmaco e trattare la malattia microscopica residua; può essere presa in considerazione in pazienti con basso carico peritoneale, generalmente con PCI ≤6, e candidabili a una citoriduzione completa o quasi completa [1,28].

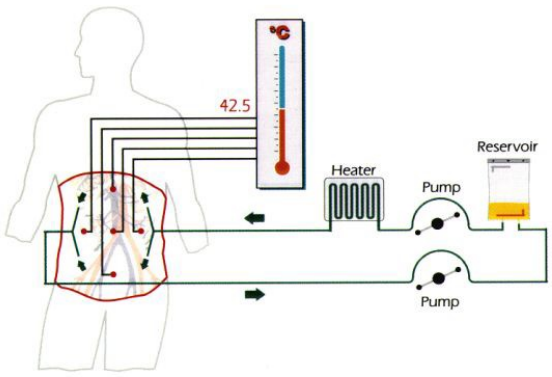


Figura 11. Rappresentazione schematica del funzionamento dell' HIPEC

La PIPAC (pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy, chemioterapia intraperitoneale aerosolizzata e pressurizzata) prevede invece la somministrazione laparoscopica di chemioterapia in forma aerosolizzata nella cavità peritoneale. Trova impiego soprattutto nei pazienti con metastasi peritoneali non resecabili, con finalità di controllo intraperitoneale della malattia, contenimento della sintomatologia e, in casi selezionati, possibile downstaging nell'ambito di un trattamento bidirezionale associato a chemioterapia sistemica [1,28].

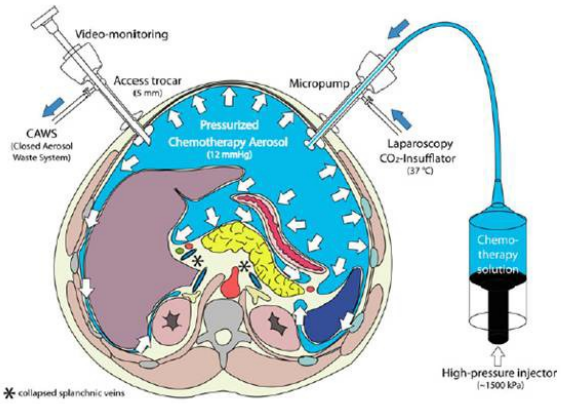


Figura 12. Rappresentazione schematica del funzionamento della PIPAC

L'EPIC (early postoperative intraperitoneal chemotherapy, chemioterapia intraperitoneale postoperatoria precoce) consiste nella somministrazione intraperitoneale di chemioterapia nei giorni immediatamente successivi alla chirurgia citoriduttiva, con l'obiettivo di trattare la malattia microscopica residua. Tuttavia, il suo impiego rimane limitato e il beneficio clinico nel carcinoma gastrico non è ancora definito in modo univoco [1,28].

2. SCOPO DELLO STUDIO

Nonostante l'impiego sempre più diffuso della chemioterapia neoadiuvante nei pazienti con carcinoma gastrico localmente avanzato ed avanzato, la risposta al trattamento rimane fortemente eterogenea e non sempre prevedibile sulla base dei soli parametri clinico-patologici convenzionali. In questo contesto, l'identificazione di biomarcatori in grado di correlarsi alla sensibilità alla terapia preoperatoria e agli esiti oncologici rappresenta un aspetto di crescente interesse, con potenziali ricadute sulla stratificazione prognostica e sulla personalizzazione del trattamento. Alla luce di queste considerazioni, il presente studio si è proposto di analizzare il ruolo di alcuni biomarcatori selezionati, in particolare MSI, HER2, E-caderina e claudina, nei pazienti affetti da carcinoma gastrico localmente avanzato o avanzato sottoposti a trattamento chemioterapico e successiva chirurgia. L'obiettivo principale è stato quello di valutarne l'associazione con la risposta al trattamento preoperatorio, mentre tra gli obiettivi secondari è stata inclusa l'analisi del loro possibile significato prognostico in termini di sopravvivenza globale (OS) e disease-free survival (DFS).

3. MATERIALI E METODI

Disegno dello studio e setting

È stato condotto uno studio osservazionale retrospettivo monocentrico presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria Senese (Ospedale Santa Maria alle Scotte, Siena), basato sulla revisione dei pazienti affetti da adenocarcinoma gastrico localmente avanzato o metastatico selezionato, sottoposti a chemioterapia neoadiuvante o di conversione seguita da resezione chirurgica nel periodo compreso tra gennaio 2010 e aprile 2023. I dati clinici, chirurgici e di follow-up sono stati estratti da un database chirurgico curato prospetticamente.

I criteri di inclusione erano i seguenti: (i) età ≥18 anni e diagnosi istologica di adenocarcinoma gastrico; (ii) malattia clinicamente localmente avanzata o metastatica selezionata, definita come stadio >cT2N0, cioè presenza di invasione tumorale oltre la muscolare propria, coinvolgimento linfonodale regionale documentato radiologicamente, oppure entrambe le condizioni; (iii) trattamento con chemioterapia neoadiuvante o di conversione per almeno due cicli, seguito da chirurgia resettiva con intento potenzialmente curativo (gastrectomia totale o subtotale); (iv) disponibilità di tessuto tumorale adeguato per la determinazione dello status HER2 e MSI.

I dati, inclusi i dettagli delle complicanze postoperatorie, della mortalità, della recidiva e della sopravvivenza per ciascun paziente, sono stati raccolti prospetticamente e conservati in modo sicuro nel database mediante cifratura delle informazioni sensibili con crittografia AES-256, al fine di garantire riservatezza e conformità alle normative sulla protezione dei dati.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Regionale per la Sperimentazione Clinica della Toscana – sezione AREA VASTA SUD EST (16 gennaio 2023; Prot. n. 23446). Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i pazienti viventi.

Stadiazione

I pazienti sono stati sottoposti a endoscopia con biopsia, TC torace-addome con mezzo di contrasto per la stadiazione e, se necessario, a laparoscopia preoperatoria di stadiazione. Tutti i casi sono stati discussi

nel Multidisciplinary Upper GI Oncology Group (MDT) dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Siena prima di procedere con l'approccio terapeutico [89]

Protocollo chemioterapico

I pazienti sono stati trattati con diversi protocolli chemioterapici, categorizzati in base al regime utilizzato: FLOT/DOX, ECF/EOX, FOLFOX o altri. Le specifiche combinazioni farmacologiche sono state somministrate secondo protocolli istituzionali e linee guida internazionali.

Il regime FLOT includeva 5-fluorouracile (2600 mg/m² in infusione di 24 ore, giorno 1), leucovorina (200 mg/m², giorno 1), oxaliplatino (85 mg/m², giorno 1) e docetaxel (50 mg/m², giorno 1).

Il regime ECF/EOX consisteva in epirubicina (50 mg/m², giorno 1), cisplatino (60 mg/m², giorno 1) e, alternativamente, 5-fluorouracile (200 mg/m²/die in infusione continua) oppure capecitabina (625 mg/m² per via orale due volte al giorno).

Il protocollo FOLFOX includeva 5-fluorouracile (400 mg/m² in bolo seguito da 2400 mg/m² in infusione continua per 46 ore), leucovorina (200 mg/m²) e oxaliplatino (85 mg/m², giorno 1).

Tutti i pazienti hanno ricevuto almeno due cicli di chemioterapia neoadiuvante (NAC). La risposta tumorale è stata valutata radiologicamente prima della chirurgia e classificata secondo i criteri RECIST 1.1 come risposta completa (CR), risposta parziale (PR), malattia stabile (SD) o malattia in progressione (PD).

Imaging

Le scansioni TC sono state acquisite con tecnica spirale utilizzando un'apparecchiatura a 64 strati di detettori; 34 pazienti sono stati esaminati con Lightspeed VCT (General Electric Healthcare, Milwaukee, USA) e 83 pazienti con Discovery CT 750 (GE Healthcare, Milwaukee, USA); 4 pazienti sono stati sottoposti a TC con VCT in fase di stadiazione e con Discovery 750 in fase di ristadiazione. La TC di stadiazione è stata eseguita entro 2 settimane prima dell'inizio della chemioterapia neoadiuvante (NAC), mentre la TC di ristadiazione è stata eseguita entro 30 giorni prima dell'intervento chirurgico.

Le TC sono state effettuate secondo il protocollo descritto nelle linee guida del Gruppo Italiano di Ricerca sul Cancro Gastrico (GIRCG) [90]. La distensione delle pareti gastriche è stata ottenuta mediante somministrazione di due bustine di bicarbonato di sodio e acido citrico seguite da una piccola quantità di acqua, mentre l'ipotonizzazione delle pareti gastriche è stata ottenuta tramite somministrazione di 0,5 mg di glucagone 3 minuti prima dell'esame. In caso di elevato sospetto di carcinosi peritoneale, la parete dell'intestino tenue è stata distesa mediante mezzo di contrasto isodenso iperosmolare. Tutti i pazienti sottoposti a TC hanno osservato un digiuno di almeno 6 ore.

Dopo l'acquisizione non contrastografica, sono state eseguite scansioni TC con mezzo di contrasto in fase arteriosa tardiva (45–50 s) sull'addome superiore e in fase venosa portale (70–80 s) dal margine pelvico fino all'inlet toracico, dopo iniezione endovenosa di 1,5–2 ml/kg di mezzo di contrasto non ionico. Una scansione TC tardiva a 180–300 s è stata utilizzata per caratterizzare lesioni epatiche e peritoneali dubbie.

Le TC di stadiazione e ristadiazione sono state revisionate in modo indipendente da due radiologi esperti per determinare la stadiazione clinica e la risposta alla NAC secondo i criteri RECIST 1.1 (PD, PR, SD e CR) [91].

Intervento chirurgico

L'intervento chirurgico è stato eseguito generalmente 4–6 settimane dopo il completamento dell'ultimo ciclo di chemioterapia preoperatoria, previa rivalutazione clinico-radiologica e discussione multidisciplinare. Il tipo di resezione gastrica, gastrectomia totale o subtotale, è stato definito in base alla sede della neoplasia, all'estensione di malattia, alla possibilità di ottenere margini oncologicamente adeguati e alle condizioni cliniche del paziente.

L'estensione della linfoadenectomia è stata stabilita sulla base della stadiazione preoperatoria, del sospetto coinvolgimento linfonodale e dell'eventuale estensione locoregionale o metastatica selezionata della malattia. Gli interventi sono stati eseguiti secondo i principi della chirurgia oncologica gastrica e in accordo con le indicazioni del Gruppo Italiano di Ricerca sul Cancro Gastrico. Subito dopo l'asportazione, il pezzo operatorio è stato aperto da un chirurgo appositamente formato, che ha inoltre eseguito il sampling a fresco dei linfonodi appartenenti alle principali stazioni linfonodali, al fine di garantire un'adeguata mappatura anatomica e una corretta valutazione patologica. Nei casi selezionati,

in presenza di coinvolgimento peritoneale limitato o di indicazione intraoperatoria, la gastrectomia è stata associata a procedure aggiuntive, incluse resezioni multiviscerali e/o trattamento locoregionale intraperitoneale.

Al termine della procedura chirurgica, la radicalità della resezione è stata classificata secondo i criteri UICC come R0, R1 o R2. Le complicanze postoperatorie sono state registrate e classificate secondo Clavien-Dindo, raggruppando gli eventi in complicanze minori e maggiori. La mortalità postoperatoria è stata definita come decesso avvenuto durante la degenza ospedaliera o entro 30 giorni dall'intervento.

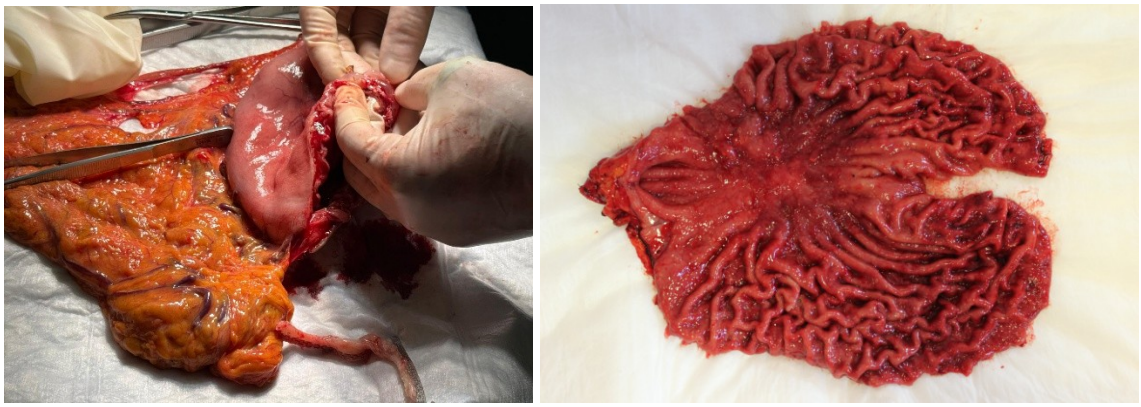


Figura 13. Apertura del campione chirurgico dopo intervento di gastrectomia. Foto tratte da casistica interna dell'U.O.C. di Chirurgia Generale, Azienda Ospedaliero-Universitaria Senese.

Patologia

L'analisi istologica dei campioni chirurgici su pezzo operatorio è stata eseguita da patologi con specifica expertise in patologia gastrica e ha fornito dati relativi a: sede della neoplasia, istotipo secondo le classificazioni di Laurén e WHO, invasione linfovascolare e perineurale, tumor regression grade (TRG) secondo Becker [92], numero di linfonodi asportati e stadiazione patologica post-trattamento (ypTNM). I campioni chirurgici sono stati fissati in formalina tamponata al 10% immediatamente dopo il prelievo. Per il processamento sono state utilizzate tecniche standard di formalina e inclusione in paraffina (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) [93–94].

Ai fini del presente studio, i blocchetti FFPE dei campioni chirurgici sono stati recuperati presso il Servizio di Anatomia Patologica. Nell'intera coorte sono stati valutati lo status HER2 e lo status MSI.

Nella sottoanalisi dedicata ai carcinomi diffusi/scarsamente coesi, è stata inoltre valutata mediante immunoistochimica l'espressione di E-caderina e Claudina 18.2 sui campioni chirurgici disponibili.

L'immunoistochimica (IHC) per l'espressione di HER2 (c-erbB-2) è stata eseguita utilizzando l'anticorpo clone 4B5 sulla piattaforma Roche-Ventana Benchmark Ultra. La conferma mediante ibridazione in situ fluorescente (FISH) è richiesta esclusivamente nei casi con score 2+; tuttavia, la FISH può essere eseguita anche nei casi 1+, poiché questi possono risultare difficili da definire con la sola IHC (Figura 14) [50–54].

L'espressione delle proteine del mismatch repair (MMR) (MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2) è stata valutata mediante anticorpi specifici (MLH1 clone M1; MSH2 clone G219-1129; MSH6 clone SP93; PMS2 clone A16-4). Tutte le determinazioni sono state eseguite sulla piattaforma Roche-Ventana Benchmark Ultra e interpretate tramite confronto con un controllo interno (Figure 15, 16) [55–57].

L'espressione di Claudina 18.2 (CLDN18.2) è stata valutata considerando la colorazione membranosa delle cellule tumorali vitali (Figura 17). Per ciascun caso è stata stimata la percentuale complessiva di cellule neoplastiche positive. Ai fini dell'analisi statistica, i tumori sono stati dicotomizzati in due gruppi: espressione elevata, definita come positività membranosa in ≥70% delle cellule tumorali, ed espressione bassa o assente, definita come positività in <70% delle cellule tumorali. La soglia del 70% è stata adottata con finalità esplorativa nell'ambito della presente sottoanalisi e non deve essere interpretata come criterio terapeutico formale. Nei trial registrativi con zolbetuximab, la positività per CLDN18.2 è stata generalmente definita da colorazione membranosa moderata-forte in almeno il 75% delle cellule tumorali vitali.

La valutazione immunoistochimica dell'E-caderina è stata eseguita su sezioni di tessuto tumorale fissato in formalina e incluso in paraffina, dello spessore di 2 μm (Figura 18). L'analisi è stata condotta utilizzando anticorpo anti-E-caderina clone NCH-38 (Dako, diluizione 1:100). Il tessuto epiteliale gastrico non neoplastico presente nel campione è stato utilizzato come controllo interno positivo. L'interpretazione dell'espressione di E-caderina è stata basata prevalentemente sulla valutazione della colorazione membranosa delle cellule tumorali, confrontata con quella dell'epitelio gastrico normale. È stato adottato uno score semiquantitativo a tre categorie: score 0 in caso di assenza di colorazione membranosa o positività in ≤10% delle cellule neoplastiche; score 1 in caso di espressione intermedia o eterogenea, con positività membranosa compresa tra 10% e 90% delle cellule tumorali, oppure in

presenza di pattern aberrante; score 2 in caso di espressione membranosa conservata in >90% delle cellule tumorali. Ai fini dell'analisi statistica, i casi con score 0 e 1 sono stati accorpati e considerati come tumori con espressione ridotta, assente o alterata di E-caderina, mentre i casi con score 2 sono stati considerati come tumori con espressione preservata. L'analisi è stata condotta sui campioni chirurgici disponibili, nell'ambito della sottoanalisi dedicata ai carcinomi diffusi/scarsamente coesi.

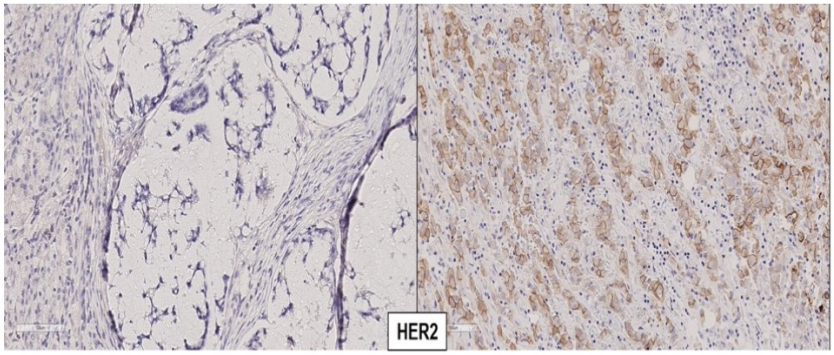


Figura 14. Foto di vetrini che raffigurano due casi del nostro studio, con POSITIVITÀ A HER-2 (destra) e NEGATIVITÀ A HER-2 (sinistra), gentilmente concesse dal reparto di Anatomia Patologica dell'AOU Senese.

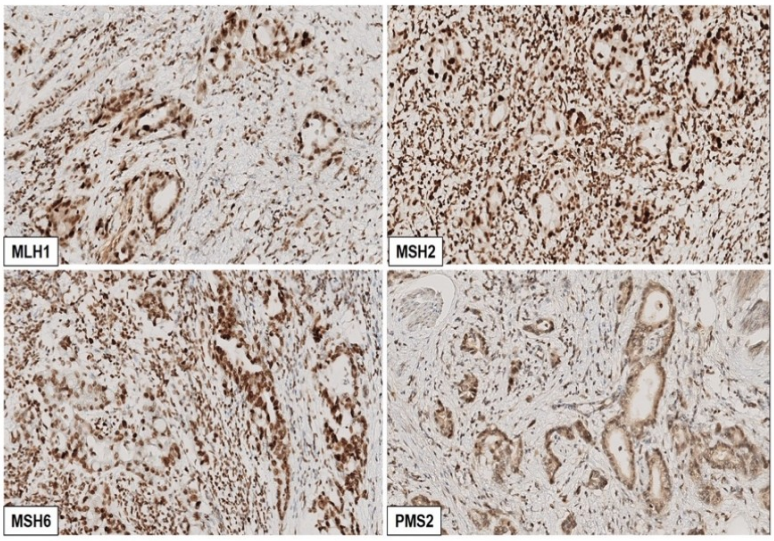


Figura 15. Foto di vetrini che raffigurano un caso del nostro studio con STABILITÀ microsatellitare (MSS), gentilmente concesse dal reparto di Anatomia Patologica dell'AOU Senese.

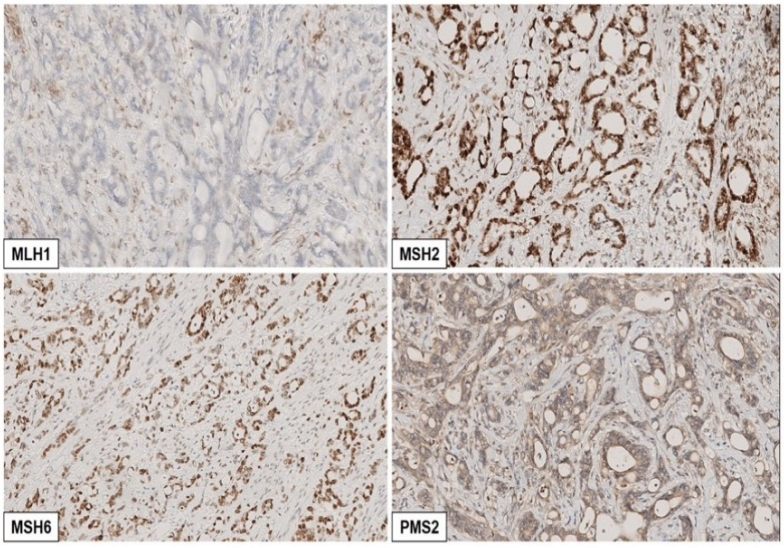


Figura 16. Foto di vetrini che raffigurano un caso del nostro studio con INSTABILITÀ microsatellitare (MSI), gentilmente concesse dal reparto di Anatomia Patologica dell'AOU Senese.

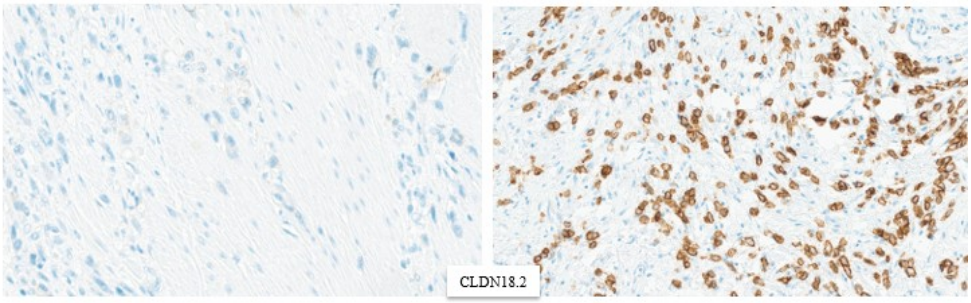


Figura 17. Foto di vetrini che raffigurano due casi del nostro studio, con POSITIVITÀ a Claudina 18.2 (destra) e NEGATIVITÀ a Claudina 18.2 (sinistra), gentilmente concesse dal reparto di Anatomia Patologica dell'AOU Senese.

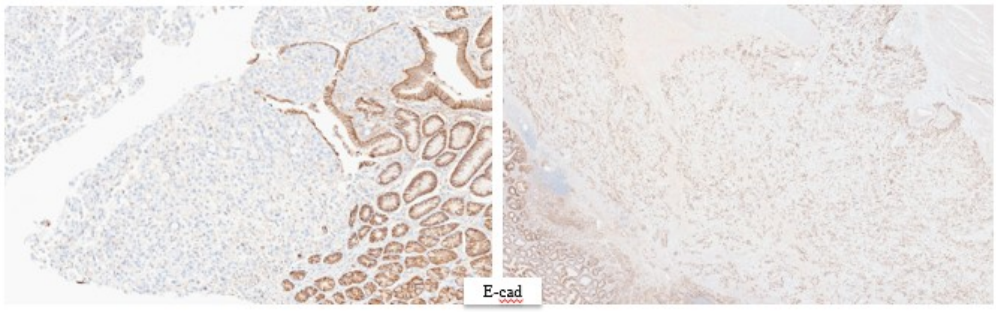


Figura 18. Foto di vetrini che raffigurano due casi del nostro studio, con POSITIVITÀ a E-Caderina (destra) e NEGATIVITÀ a E-Caderina (sinistra), gentilmente concesse dal reparto di Anatomia Patologica dell'AOU Senese.

Follow-up

Le visite di follow-up e gli esami ematochimici (inclusi i marker tumorali) sono stati eseguiti ogni 3 mesi nei primi 2 anni, quindi ogni 6 mesi fino al 5° anno. Le TC di controllo sono state effettuate ogni 6 mesi per i primi 2 anni e successivamente con cadenza annuale. L'endoscopia è stata generalmente programmata a 1, 3 e 5 anni dall'intervento chirurgico [90]. I dati di sopravvivenza sono stati aggiornati mediante visite ambulatoriali di follow-up oppure tramite interviste telefoniche.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software SPSS, versione 26. I confronti tra gruppi sono stati effettuati mediante t-test di Student per le variabili continue a distribuzione normale, test χ^2 per le variabili categoriali e correlazione di Pearson per valutare associazioni lineari. Un valore di $P < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Le analisi di sopravvivenza sono state condotte con il metodo di Kaplan–Meier e le differenze tra le curve di sopravvivenza sono state valutate mediante log-rank test. L'analisi multivariata dei fattori prognostici per la sopravvivenza globale (OS) è stata eseguita tramite modello di rischio proporzionale di Cox. Le variabili sono state selezionate con procedura stepwise forward. Per ciascuna variabile risultata significativa sono stati stimati gli hazard ratio (HR) con i relativi intervalli di confidenza (IC) al 95%, e confrontati rispetto alle categorie di riferimento.

La presenza di dati mancanti è stata valutata prima dell'analisi. Tutti i pazienti privi di dati molecolari (status HER2 o MSI) sono stati esclusi dalla coorte finale dello studio. Tra i casi inclusi, i dati clinici e patologici completi erano disponibili per tutte le variabili principali, ad eccezione del tumor regression grade (Becker score), non disponibile in nove pazienti a causa di un'incompleta identificazione dello stato neoadiuvante al momento della valutazione anatomopatologica.

4. RISULTATI

Sono stati inclusi complessivamente 121 pazienti. Di questi, 40 (33,1%) erano donne e 81 (66,9%) uomini. L'età mediana era 66 (IQR 13; range 26–83). Le caratteristiche della popolazione in studio sono riassunte in Tabella 3. La neoplasia risultava localizzata nel terzo inferiore dello stomaco in 50 casi (41,3%), mentre nel terzo superiore e nel terzo medio rispettivamente in 36 (29,8%) e 25 (20,7%) casi; in 10 pazienti era presente una linite plastica (8,2%).

Tutti i pazienti hanno ricevuto chemioterapia preoperatoria secondo i seguenti regimi: DOX-FLOT in 80 casi (66,1%), ECF-EOX in 18 (14,9%), FOLFOX in 10 (8,3%), mentre 13 (10,7%) hanno ricevuto altri regimi chemioterapici. È importante sottolineare che, poiché lo status HER2 nei casi non metastatici non era noto al momento del trattamento e tutti i casi in stadio IV erano HER2-negativi, nessun paziente HER2-positivo ha ricevuto una terapia target come trattamento di prima linea. Alla rivalutazione clinico-radiologica (TC), 70 pazienti (57,9%) hanno mostrato una risposta parziale o completa (PR/CR), 41 (33,9%) una malattia stabile (SD) e 8 (6,6%) una progressione di malattia (PD).

Dal punto di vista chirurgico, 67 pazienti (55,4%) sono stati sottoposti a gastrectomia totale e 54 (44,6%) a gastrectomia subtotale. Una linfoadenectomia D2 è stata eseguita in 32 (26,4%) pazienti, mentre in 84 (69,4%) è stata eseguita una linfoadenectomia super-estesa. In 59 casi (48,8%), il numero mediano (IQR) di linfonodi asportati è stato 39 (28), e una resezione R0 è stata ottenuta in 84 pazienti (69,4%). Nella maggior parte dei casi R+, R1 (residuo tumorale microscopico) era dovuta alla presenza di citologia peritoneale positiva all'intervento (12 casi, 9,9%). Una resezione incompleta R2 è stata osservata in 13 (10,7%) pazienti.

Variabile	**Coorte totale (n=121)**
Età, anni	66 (IQR 13; range 26-83)
Degenza ospedaliera, giorni	11 (IQR 5; range 5-133)
Sesso	
Femmina	40 (33,1%)
Maschio	81 (66,9%)

Variabile	Coorte totale (n=121)
Stato MSI	
MSS	113 (93,4%)
MSI	8 (6,6%)
Stato HER2	
Negativo	109 (90,1%)
Positivo	12 (9,9%)
Sede del tumore	
Terzo superiore	36 (29,8%)
Terzo medio	25 (20,7%)
Terzo inferiore	50 (41,3%)
Diffuso (linite plastica)	10 (8,2%)
Istotipo sec. Lauren	
Intestinale	52 (43,0%)
Diffuso/misto	61 (50,4%)
Non classificato	8 (6,6%)
Classificazione WHO	
Mucinoso	7 (5,8%)
Papillare/tubulare	57 (47,1%)
Scarsamente coeso, non ad anello con castone	19 (15,7%)
Scarsamente coeso, ad anello con castone	38 (31,4%)
Laparoscopia di stadiazione	
Eseguita	82 (67,8%)
Non eseguita	39 (32,2%)
Tipo di intervento chirurgico	
Gastrectomia totale	67 (55,4%)
Gastrectomia subtotale	54 (44,6%)

Variabile	Coorte totale (n=121)
Complicanze post-operatorie	
< III	110 (90,9%)
≥ III	11 (9,1%)
Stato di radicalità (UICC R)	
R0	84 (69,4%)
R1	24 (19,8%)
R2	13 (10,7%)
Linfoadenectomia	
D1	5 (4,1%)
D2	32 (26,4%)
Super-estesa	84 (69,4%)
Linfonodi asportati	
<25	24 (19,8%)
25-40	59 (48,8%)
>40	38 (31,4%)
Invasione perineurale (PNI)	
Presente	67 (55,4%)
Assente	54 (44,6%)
Stadio clinico	
II	16 (13,2%)
III	72 (59,5%)
IV	33 (27,3%)

Variabile	Coorte totale (n=121)
Stadio ypT	
ypT0	11 (9,1%)
ypT1	5 (4,1%)
ypT2	13 (10,7%)
ypT3	32 (26,5%)
ypT4	60 (49,6%)
Stadio ypN	
ypN0	37 (30,6%)
ypN1	27 (22,3%)
ypN2	25 (20,7%)
ypN3a	18 (14,9%)
ypN3b	14 (11,5%)
Stadio yM	
yM0	89 (73,6%)
yM1	32 (26,4%)
Grado di Becker	
1	22 (18,2%)
2	23 (19,0%)
3	67 (55,4%)
Non disponibile	9 (7,4%)
Risposta alla TC	
CR	4 (3,3%)
PR	68 (56,2%)
SD	41 (33,9%)
PD	8 (6,6%)

Variabile	Coorte totale (n=121)
Schema chemioterapico	
DOX/FLOT	80 (66,1%)
ECF/EOX	18 (14,9%)
FOLFOX	10 (8,3%)
Altri	13 (10,7%)

Tabella 3. Caratteristiche della popolazione

OS (sopravvivenza globale), IQR (intervallo interquartile). Le variabili continue sono espresse come media ± deviazione standard (DS) oppure come mediana (IQR). Le variabili categoriche sono riportate come numeri assoluti (percentuale).

Dati istopatologici e molecolari

La maggior parte dei pazienti presentava un istotipo WHO papillare o tubulare (n = 57; 47,1%) oppure un istotipo scarsamente differenziato con cellule ad anello con castone (n = 38; 31,4%). Secondo la classificazione di Lauren, l'istotipo era misto o diffuso in 61 casi (50,4%) e intestinale in 52 casi (43%).

Dopo chemioterapia neoadiuvante (NAC), 22 pazienti (18,2%) presentavano 0–10% di tumore residuo (Becker 1), mentre 23 (19%) e 67 (55,4%) presentavano rispettivamente 10–50% o >50% di tumore residuo (Becker 2 o 3).

L'instabilità microsatellitare (MSI) è stata osservata in otto casi (6,6%), mentre 12 pazienti (9,9%) risultavano HER2-positivi. Tutti i tumori MSI erano HER2-negativi (P < 0,001).

Come mostrato in Tabella 4, età, sesso, sede tumorale, tipo di linfoadenectomia e risposta clinica alla chemioterapia preoperatoria non differivano tra i gruppi. Lo stadio clinico risultava tuttavia più avanzato nel gruppo MSI (tutti i pazienti in stadio II erano MSS). Non è stata osservata una differenza significativa nel grado di risposta secondo Becker, ma è interessante notare che tutti i tumori ypT0–ypT1 (16 casi in questa serie) erano MSS.

Per quanto riguarda l'espressione di HER2, come atteso, è stata osservata una differenza significativa in base alla classificazione di Lauren (tipo intestinale: HER2-positivo 66,7% vs HER2-negativo 40,3%; P = 0,034). Anche la risposta patologica alla chemioterapia differiva in base allo status HER2 (Becker 1: HER2-positivo 41,7% vs HER2-negativo 17%; p = 0,048).

Variabile	HER2 negativo	HER2 positivo	p-value	MSS	MSI	p-value
Età			**0,987**			**0,694**
<55 anni	20 (90,9%)	2 (9,1%)		21 (95,5%)	1 (4,5%)	
55-64 anni	31 (91,2%)	3 (8,8%)		33 (97,0%)	1 (3,0%)	
65-74 anni	40 (88,9%)	5 (11,1%)		41 (91,1%)	4 (8,9%)	
75-84 anni	18 (90,0%)	2 (10,0%)		18 (90,0%)	2 (10,0%)	
Sesso			**0,983**			**0,782**
Femmina	36 (90,0%)	4 (10,0%)		37 (92,5%)	3 (7,5%)	
Maschio	73 (90,1%)	8 (9,9%)		76 (93,8%)	5 (6,2%)	
Sede del tumore			**0,570**			**0,282**
I	33 (91,7%)	3 (8,3%)		32 (88,9%)	4 (11,1%)	
II	24 (96,0%)	1 (4,0%)		25 (100,0%)	0 (0,0%)	
III	43 (86,0%)	7 (14,0%)		46 (92,0%)	4 (8,0%)	
Diffuso	9 (90,0%)	1 (10,0%)		10 (100,0%)	0 (0,0%)	
Istotipo sec. Lauren			**0,034**			**0,316**
Intestinale	44 (84,6%)	8 (15,4%)		47 (90,4%)	5 (9,6%)	
Diffuso/Misto	59 (96,7%)	2 (3,3%)		59 (96,7%)	2 (3,3%)	
Non classificato	6 (75,0%)	2 (25,0%)		7 (87,5%)	1 (12,5%)	

Variabile	HER2 negativo	HER2 positivo	p-value	MSS	MSI	p-value
Classificazione WHO			**0,184**			**0,546**
Mucinoso	7 (100,0%)	0 (0,0%)		6 (85,7%)	1 (14,3%)	
Papillare/Tubulare	49 (86,0%)	8 (14,0%)		52 (91,2%)	5 (8,8%)	
Scarsamente coeso, non ad anello con castone	16 (84,2%)	3 (15,8%)		18 (94,7%)	1 (5,3%)	
Scarsamente coeso, ad anello con castone	37 (97,3%)	1 (2,7%)		37 (97,4%)	1 (2,6%)	
Tipo di intervento chirurgico			**0,314**			**0,675**
Gastrectomia totale	62 (92,5%)	5 (7,5%)		62 (92,5%)	5 (7,5%)	
Gastrectomia subtotale	47 (87,0%)	7 (13,0%)		51 (94,4%)	3 (5,6%)	
Complicanze post-operatorie			**0,248**			**0,355**
0-II	98 (89,1%)	12 (10,9%)		102 (92,7%)	8 (7,3%)	
>III	11 (100,0%)	0 (0,0%)		11 (100,0%)	0 (0,0%)	
Stato di radicalità (UICC R)			**0,876**			**0,187**
R0	76 (90,5%)	8 (9,5%)		78 (92,9%)	6 (7,1%)	
R1	21 (87,5%)	3 (12,5%)		24 (100,0%)	0 (0,0%)	
R2	12 (92,3%)	1 (7,7%)		11 (84,6%)	2 (15,4%)	
Linfoadenectomia			**0,743**			**0,105**
D1	4 (80,0%)	1 (20,0%)		4 (80,0%)	1 (20,0%)	
D2	29 (90,6%)	3 (9,4%)		28 (87,5%)	4 (12,5%)	
Super-estesa	76 (90,5%)	8 (9,5%)		81 (96,4%)	3 (3,6%)	
Linfonodi asportati			**0,561**			**0,845**
<25	23 (95,8%)	1 (4,2%)		23 (95,8%)	1 (4,2%)	
25-40	34 (89,5%)	4 (10,5%)		35 (92,1%)	3 (7,9%)	
>40	52 (88,1%)	7 (11,9%)		55 (93,2%)	4 (6,8%)	
Invasione perineurale (PNI)			**0,106**			**0,675**
Presente	63 (94,0%)	4 (6,0%)		62 (92,5%)	5 (7,5%)	
Assente	46 (85,2%)	8 (14,8%)		51 (94,4%)	3 (5,6%)	

Variabile	HER2 negativo	HER2 positivo	p-value	MSS	MSI	p-value
Stadio clinico			**0,155**			**0,001**
II	14 (87,5%)	2 (12,5%)		16 (100,0%)	0 (0,0%)	
III	62 (86,1%)	10 (13,9%)		67 (93,1%)	5 (6,9%)	
IV	33 (100,0%)	0 (0,0%)		30 (90,9%)	3 (9,1%)	
Stadio ypT			**0,206**			**0,817**
ypT0	8 (72,7%)	3 (27,3%)		11 (100,0%)	0 (0,0%)	
ypT1	4 (80,0%)	1 (20,0%)		5 (100,0%)	0 (0,0%)	
ypT2	11 (84,6%)	2 (15,4%)		12 (92,3%)	1 (7,7%)	
ypT3	30 (93,8%)	2 (6,2%)		29 (90,6%)	3 (9,4%)	
ypT4	56 (93,3%)	4 (6,7%)		56 (93,3%)	4 (6,7%)	
Stadio ypN			**0,251**			**0,406**
ypN0	31 (83,8%)	6 (16,2%)		36 (97,3%)	1 (2,7%)	
ypN1	26 (96,3%)	1 (3,7%)		24 (88,8%)	3 (11,2%)	
ypN2	23 (92,0%)	2 (8,0%)		22 (88,0%)	3 (12,0%)	
ypN3a	15 (83,3%)	3 (16,7%)		17 (94,4%)	1 (5,6%)	
ypN3b	14 (100,0%)	0 (0,0%)		14 (100,0%)	0 (0,0%)	
Stadio ypM			**0,905**			**0,924**
ypM0	80 (89,9%)	9 (10,1%)		83 (93,3%)	6 (6,7%)	
ypM1	29 (90,6%)	3 (9,4%)		30 (93,8%)	2 (6,2%)	
Grado di Becker			**0,048**			**0,213**
1	17 (77,3%)	5 (22,7%)		21 (95,5%)	1 (4,5%)	
2	23 (100,0%)	0 (0,0%)		23 (100,0%)	0 (0,0%)	
3	60 (89,6%)	7 (10,4%)		60 (89,6%)	7 (10,4%)	
Non valutabile	9 (100,0%)	0 (0,0%)		9 (100,0%)	0 (0,0%)	
Risposta TC			**0,249**			**0,190**
CR + PR	63 (87,5%)	9 (12,5%)		69 (95,8%)	3 (4,2%)	
SD + PD	46 (93,9%)	3 (6,1%)		44 (89,8%)	5 (10,2%)	

Variabile	HER2 negativo	HER2 positivo	p-value	MSS	MSI	p-value
Schema chemioterapico			**0,441**			**0,186**
DOX/FLOT	71 (88,6%)	9 (11,4%)		76 (95,0%)	4 (5,0%)	
ECF/EOX	15 (83,3%)	3 (16,7%)		18 (100,0%)	0 (0,0%)	
FOLFOX	10 (100,0%)	0 (0,0%)		8 (80,0%)	2 (20,0%)	
Altri	13 (100,0%)	0 (0,0%)		11 (84,6%)	2 (15,4%)	

Tabella 4. Distribuzione delle variabili demografiche, istologiche, chirurgiche e terapeutiche in base allo status di HER2 e MSI. IQR (intervallo interquartile), CR (complete response), PR (partial response), SD (stable disease), PD (progressive disease). La significatività statistica è stata valutata mediante test del chi-quadrato o test esatto di Fisher, considerando significativi i valori di $p < 0,05$.

È stata inoltre condotta una sottoanalisi biomolecolare retrospettiva sui carcinomi scarsamente coesi. Dei casi appartenenti a questo sottogruppo, 27 presentavano materiale tumorale residuo adeguato nei blocchetti FFPE del pezzo operatorio e sono stati sottoposti a valutazione immunoistochimica aggiuntiva di E-caderina e Claudina 18.2. Per quanto riguarda l'espressione di E-caderina, 1/27 caso (3,7%) presentava score 0, 5/27 casi (18,5%) presentavano score 1 e 21/27 casi (77,8%) presentavano score 2. Per esigenze di analisi statistica, i casi con score 0 e score 1 venivano accorpati in un unico gruppo, definito E-caderina 0/1. Pertanto, 21/27 casi (77,8%) mostravano un pattern di espressione preservato (score 2), mentre 6/27 (22,2%) presentavano espressione ridotta o assente (score 0/1). Come riportato in Tabella 5, i due gruppi risultavano complessivamente sovrapponibili per la maggior parte delle variabili clinico-patologiche considerate. L'unica differenza statisticamente significativa riguardava l'età, risultata più elevata nel gruppo con E-caderina 0/1 rispetto al gruppo con E-caderina 2 [69,5 anni (IQR 66,8–70,0) vs 59,0 anni (IQR 52,0–67,1); $p = 0,041$]. Non emergevano invece differenze significative in termini di sesso, stato dei margini, estensione della linfoadenectomia, invasione vascolare, linfatica o perineurale, stadio patologico post-neoadiuvante, numero di cicli somministrati, risposta secondo Becker, stato vitale o recidiva. Si osservava inoltre una tendenza non significativa verso una maggiore tossicità del trattamento nel gruppo con ridotta espressione di E-caderina [3/6 casi (50,0%) vs 2/21 casi (9,5%); $p = 0,056$].

Variabile	E-caderina 2 (n=21)	E-caderina 0/1 (n=6)	p
Età, anni	59.0 (52.0-67.1)	69.5 (66.8-70.0)	**0.041**
Sesso			1.000
M	12/21 (57.1%)	3/6 (50.0%)	
F	9/21 (42.9%)	3/6 (50.0%)	
Approccio chirurgico			**0.402**
LAP	20/21 (95.2%)	5/6 (83.3%)	
RBT	1/21 (4.8%)	1/6 (16.7%)	
Stato dei margini (UICC-R)			**0.563**
R0	13/21 (61.9%)	5/6 (83.3%)	
R1	6/21 (28.6%)	1/6 (16.7%)	
R2	2/21 (9.5%)	0/6 (0.0%)	
Linfoadenectomia			**0.142**
D1	1/21 (4.8%)	0/6 (0.0%)	
D2	2/21 (9.5%)	3/6 (50.0%)	
Super-estesa	18/21 (85,7%)	0/6 (0.0%)	
Complicanze post-operatorie			**1.000**
No	18/21 (85.7%)	6/6 (100.0%)	
Sì	3/21 (14.3%)	0/6 (0.0%)	
Degenza, giorni	12.5 (11.2-15.0)	11.5 (10.2-12.0)	**0.178**
HIPEC			**0.628**
No	13/21 (61.9%)	5/6 (83.3%)	
Sì	8/21 (38.1%)	1/6 (16.7%)	
Margine prossimale, mm	27.0 (20.0-45.0)	50.0 (45.0-50.0)	**0.051**

Variabile	E-caderina 2 (n=21)	E-caderina 0/1 (n=6)	p
Diametro massimo, mm	70.0 (40.0-90.0)	32.5 (30.0-36.2)	**0.074**
Stato MSI			**0.324**
MSS	18/21 (85.7%)	3/6 (50.0%)	
MSI	1/21 (4.8%)	1/6 (16.7%)	
Invasione vascolare			**0.155**
Sì	14/21 (66.7%)	6/6 (100.0%)	
No	7/21 (33.3%)	0/6 (0.0%)	
Invasione linfatica			**0.284**
Sì	15/21 (71.4%)	6/6 (100.0%)	
No	6/21 (28.6%)	0/6 (0.0%)	
Invasione perineurale			**1.000**
Sì	16/21 (76.2%)	5/6 (83.3%)	
No	5/21 (23.8%)	1/6 (16.7%)	
ypT			**0.151**
T4	14/21 (66.7%)	2/6 (33.3%)	
T3	6/21 (28.6%)	2/6 (33.3%)	
T2	1/21 (4.8%)	1/6 (16.7%)	
T1	0/21 (0.0%)	1/6 (16.7%)	
ypN			**0.641**
N0	6/21 (28.6%)	1/6 (16.7%)	
N1	3/21 (14.3%)	1/6 (16.7%)	
N2	3/21 (14.3%)	0/6 (0.0%)	
N3	9/21 (42.9%)	4/6 (66.7%)	

Variabile	E-caderina 2 (n=21)	E-caderina 0/1 (n=6)	p
Stadio clinico pre-neoadiuvante			**0.286**
II	6/21 (28.6%)	2/6 (33,4%)	
III	8/21 (38.1%)	2/6 (33.3%)	
IV	7/21 (33.3%)	2/6 (33.3%)	
Numero di cicli	4.0 (4.0-5.0)	4.0 (4.0-7.0)	**0.577**
Tossicità al trattamento			**0.056**
No	19/21 (90.5%)	3/6 (50.0%)	
Sì	2/21 (9.5%)	3/6 (50.0%)	
Risposta secondo Becker			**0.789**
1	1/21 (4.8%)	0/6 (0.0%)	
2	4/21 (19.0%)	1/6 (16.7%)	
3	13/21 (61.9%)	5/6 (83.3%)	
Stato vitale			**0.350**
Vivo	11/21 (52.4%)	5/6 (83.3%)	
Deceduto	10/21 (47.6%)	1/6 (16.7%)	
Recidiva			**0.344**
No	14/21 (66.7%)	3/6 (50.0%)	
Sì	5/21 (23.8%)	3/6 (50.0%)	

Tabella 5. Distribuzione delle variabili clinico-patologiche secondo E-caderina.

Per quanto riguarda l'espressione di Claudina, 16/27 casi (59,3%) presentavano una quota di cellule positive ≥70%, mentre 11/27 (40,7%) mostravano un'espressione <70%. In dettaglio, la distribuzione dei valori percentuali di espressione immunoistochimica era la seguente: 3/27 casi (11,1%) presentavano espressione pari a 0%, 1/27 (3,7%) <5%, 1/27 (3,7%) 10–20%, 1/27 (3,7%) 20–30%, 4/27 (14,8%) 30–40%, 1/27 (3,7%) 40–50%, 7/27 (25,9%) 70–80%, 4/27 (14,8%) 80–90%, 1/27 (3,7%) 90% e 4/27

(14,8%) >90%. Ai fini dell'analisi statistica, i casi venivano raggruppati in due categorie sulla base della quota di cellule positive, distinguendo i tumori con espressione <70% (11/27 casi, 40,7%) da quelli con espressione ≥70% (16/27 casi, 59,3%). Come riportato in Tabella 6, i due gruppi risultavano complessivamente sovrapponibili per la maggior parte delle variabili clinico-patologiche considerate. Non emergevano infatti differenze statisticamente significative in termini di età, sesso, approccio chirurgico, radicalità della resezione, estensione della linfoadenectomia, complicanze post-operatorie, trattamento con HIPEC, diametro tumorale massimo, stato MSI, invasione vascolare, linfatica o perineurale, stadio clinico pre-neoadiuvante, stadio patologico post-neoadiuvante, numero di cicli somministrati, risposta secondo Becker, stato vitale o recidiva. Si osservava tuttavia una tendenza non significativa in relazione allo stadio ypT (p = 0,070), con una maggiore rappresentazione di casi ypT3 nel gruppo con espressione di Claudina ≥70% [7/16 casi (43,8%) vs 1/11 casi (9,1%)] e di casi ypT1–ypT2 nel gruppo con espressione di Claudina <70% [3/11 casi (27,3%) vs 0/16 casi (0,0%)], pur in assenza di una differenza statisticamente significativa.

Variabile	Claudina 1 (n=16)	Claudina 0 (n=11)	p
Età, anni	63.5 (55.8-67.6)	63.0 (54.1-70.0)	**0.657**
Sesso			**0.452**
M	10/16 (62.5%)	5/11 (45.5%)	
F	6/16 (37.5%)	6/11 (54.5%)	
Approccio chirurgico			**0.499**
Open	14/16 (87.5%)	11/11 (100.0%)	
Mini-invasivo	2/16 (12.5%)	0/11 (0.0%)	
Stato dei margini (UICC-R)			**0.947**
R0	11/16 (68.8%)	7/11 (63.6%)	
R1	4/16 (25.0%)	3/11 (27.3%)	
R2	1/16 (6.2%)	1/11 (9.1%)	

Variabile	Claudina 1 (n=16)	Claudina 0 (n=11)	p
Linfoadenectomia			**0.416**
D1+	0/16 (0.0%)	1/11 (9.1%)	
D2	3/16 (18.8%)	2/11 (18.2%)	
Super estesa	13/16 (81,2%)	8/11 (72,7%)	
Complicanze post-operatorie			**1.000**
No	14/16 (87.5%)	10/11 (90.9%)	
Sì	2/16 (12.5%)	1/11 (9.1%)	
Degenza, giorni	12.0 (11.0-15.0)	12.0 (11.0-13.0)	**0.470**
HIPEC			**0.692**
No	10/16 (62.5%)	8/11 (72.7%)	
Sì	6/16 (37.5%)	3/11 (27.3%)	
Margine prossimale, mm	33.5 (20.0-46.2)	30.0 (25.0-50.0)	**0.718**
Diametro massimo, mm	70.0 (32.5-110.0)	50.0 (36.2-67.5)	**0.358**
Stato MSI			**1.000**
MSS	14/16 (87.5%)	7/11 (63.6%)	
MSI	1/16 (6.2%)	1/11 (9.1%)	
Invasione vascolare			**1.000**
Sì	12/16 (75.0%)	8/11 (72.7%)	
No	4/16 (25.0%)	3/11 (27.3%)	
Invasione linfatica			**1.000**
Sì	12/16 (75.0%)	9/11 (81.8%)	
No	4/16 (25.0%)	2/11 (18.2%)	

Variabile	Claudina 1 (n=16)	Claudina 0 (n=11)	p
Invasione perineurale			**0.187**
Sì	14/16 (87.5%)	7/11 (63.6%)	
No	2/16 (12.5%)	4/11 (36.4%)	
ypT			**0.070**
T1	0/16 (0.0%)	1/11 (9.1%)	
T3	7/16 (43.8%)	1/11 (9.1%)	
T2	0/16 (0.0%)	2/11 (18.2%)	
T3	7/16 (43.8%)	1/11 (9.1%)	
T4	9/16 (56.2%)	7/11 (63.6%)	
ypN			**0.498**
N0	4/16 (25.0%)	3/11 (27.3%)	
N1	2/16 (12.5%)	2/11 (18.2%)	
N2	3/16 (18.8%)	0/11 (0.0%)	
N3	7/16 (43.8%)	6/11 (54.5%)	
Stadio clinico pre-neoadiuvante			**0.573**
II	4/16 (25.0%)	4/11 (36.4%)	
III	7/16 (43.8%)	3/11 (27.2%)	
IV	5/16 (31.2%)	4/11 (36.4%)	
Numero di cicli	4.0 (4.0-4.2)	5.0 (4.0-8.0)	**0.283**
Tossicità al trattamento			**1.000**
No	13/16 (81.2%)	9/11 (81.8%)	
Sì	3/16 (18.8%)	2/11 (18.2%)	

Variabile	Claudina 1 (n=16)	Claudina 0 (n=11)	p
Risposta secondo Becker			**0.481**
1	1/16 (6.2%)	0/11 (0.0%)	
2	2/16 (12.5%)	3/11 (27.3%)	
3	11/16 (68.8%)	7/11 (63.6%)	
Stato vitale			**1.000**
Vivo	9/16 (56.2%)	7/11 (63.6%)	
Deceduto	7/16 (43.8%)	4/11 (36.4%)	
Recidiva			**0.667**
No	11/16 (68.8%)	6/11 (54.5%)	
Sì	4/16 (25.0%)	4/11 (36.4%)	

Tabella 6. Distribuzione delle variabili clinico-patologiche secondo Claudina.

Outcome di sopravvivenza

La sopravvivenza globale (OS) a 5 anni è risultata pari al 44,7% (±5%), con una sopravvivenza mediana di 42,6 mesi (Figura 19).

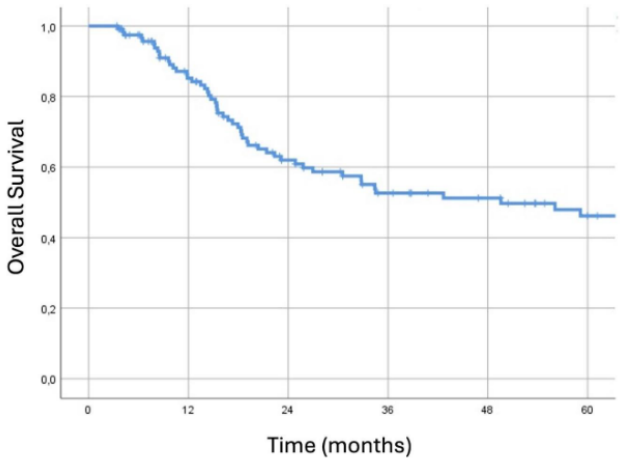


Figura 19. Sopravvivenza globale della popolazione in studio

Il test di log-rank ha evidenziato differenze significative in base a: sede del tumore primario ($p < 0,001$), stadio clinico ($p = 0,006$), ypT ($p = 0,006$), ypN ($p < 0,001$), invasione perineurale ($p < 0,001$), tipo di chirurgia ($p = 0,031$), estensione della linfoadenectomia ($p = 0,005$), quota di tumore residuo ($p < 0,001$), regime chemioterapico ($p = 0,004$), e ristadiazione clinica (progressione o malattia stabile vs risposta completa o parziale; $p = 0,041$).

Non sono emerse differenze significative di OS in base allo status HER2 ($p = 0,078$) e allo status MSI ($P = 0,786$), sebbene sia stata osservata una tendenza verso una migliore sopravvivenza nel gruppo HER2-positivo. In particolare, la OS a 5 anni è stata del 50% ± 24 nel gruppo MSI, del 77,8% ± 13,9 nei pazienti HER2-positivi/MSS, e del 41,6% ± 6 nei pazienti HER2-negativi/MSS ($p = 0,207$) (Figura 20).

L'analisi multivariata dei fattori prognostici ha mostrato che: la sede prossimale del tumore era associata a una sopravvivenza significativamente peggiore rispetto alla sede nel terzo inferiore (HR 3,89, IC 95% 1,75–8,62; p= 0,001); anche i margini di resezione R+ correlavano con prognosi peggiore (HR 1,48, IC 95% 1,24–3,16; $p = 0,004$). Tra le categorie linfonodali, ypN3 è stato l'unico stadio significativamente associato a un aumento del rischio di morte (HR 4,78, IC 95% 1,62–14,12; $p = 0,005$). L'istotipo diffuso/misto secondo Lauren ha mostrato outcome peggiori rispetto al sottotipo intestinale (HR 5,00, IC 95% 1,48–16,83; $p = 0,009$). Infine, lo status HER2-negativo è risultato indipendentemente associato a una riduzione della sopravvivenza rispetto ai pazienti HER2-positivi (HR 3,40, IC 95% 1,03–11,67; $p = 0,048$). Questi risultati sono riassunti in Tabella 7

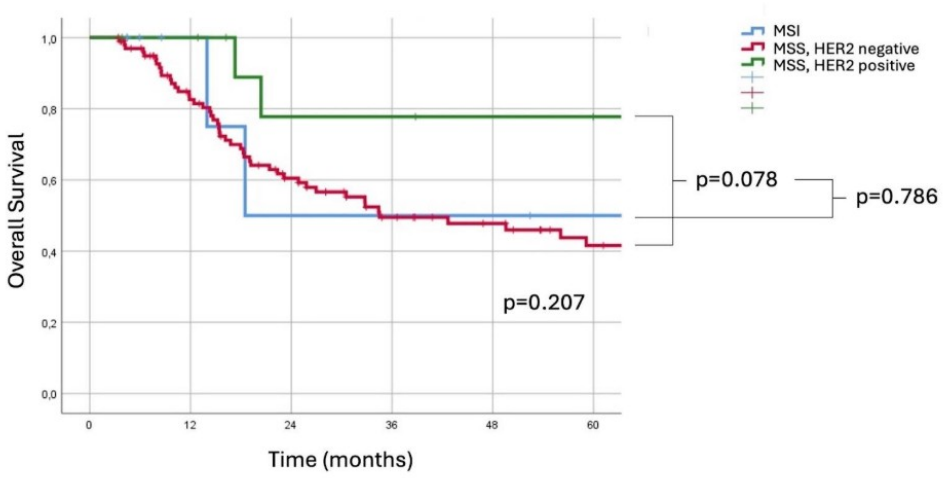


Figura 20. Curve di sopravvivenza di Kaplan–Meier secondo stato HER2 e MSI/MSS

Variabile	**HR**	**IC 95%**	**p-value**
Sede del tumore			
Terzo inferiore (Rif.)	Rif.		
Terzo superiore	3,89	1,75–8,62	0,001
Terzo medio	4,00	0,39–2,53	0,994
Radicalità			
R0 (Rif.)	Rif.		
R+	1,48	1,24–3,16	0,004
Stadio ypN			
ypN0 (Rif.)	Rif.		
ypN1	1,08	0,40–2,88	0,876
ypN2	1,70	0,67–4,31	0,263
ypN3	4,78	1,62–14,12	0,005

Variabile	HR	IC 95%	p-value
Istotipo sec. Lauren			
Intestinale (Rif.)	Rif.		
Diffuso/misto	5,00	1,48–16,83	0,009
Stato HER2			
Positivo (Rif.)	Rif.		
Negativo	3,40	1,03–11,67	0,048

Tabella 7. Regressione di Cox multivariata per la sopravvivenza globale (OS)

Nella sottoanalisi dei casi con istotipo diffuso/scarsamente coeso valutabili per Claudina ed E-caderina, non sono emerse differenze statisticamente significative di sopravvivenza globale (OS) né secondo l'espressione di E-caderina né secondo l'espressione di Claudina, dicotomizzata in base alla soglia del 70%. In particolare, nei pazienti con E-caderina 2 (n = 21) si sono osservati 10 eventi, con una mediana di OS di 18,8 mesi, una OS a 12 mesi del 57,5% e una OS a 24 mesi del 43,1%; nel gruppo con E-caderina 0/1 (n = 6) si è verificato 1 solo evento, senza raggiungimento della mediana di OS, con una OS a 12 mesi del 100,0% e una OS a 24 mesi del 50,0% (log-rank p = 0,274). Analogamente, nei pazienti con espressione di Claudina ≥70% (n = 16) si sono osservati 7 eventi, con una mediana di OS di 18,8 mesi, una OS a 12 mesi del 66,5% e una OS a 24 mesi del 44,3%; nel gruppo con espressione di Claudina <70% (n = 11) si sono verificati 4 eventi, con una mediana di OS di 19,6 mesi, una OS a 12 mesi del 64,0% e una OS a 24 mesi del 48,0% (log-rank p = 0,620). Questi dati sono riportati in Tabella 8.

Anche l'analisi esplorativa della disease-free survival (DFS) non ha evidenziato differenze statisticamente significative tra i gruppi. In particolare, nei pazienti con E-caderina 2 (n = 19) si sono osservati 5 eventi, senza raggiungimento della mediana di DFS, con una RFS a 12 mesi del 68,1% e una DFS a 24 mesi del 56,8%; nel gruppo con E-caderina 0/1 (n = 6) si sono verificati 3 eventi, con una mediana di DFS di 8,7 mesi, una DFS a 12 mesi del 40,0% e una RFS a 24 mesi del 40,0% (log-rank p = 0,415). Nei pazienti con espressione di Claudina ≥70% (n = 15) si sono osservati 4 eventi, con una

mediana di DFS di 16,8 mesi, una RFS a 12 mesi del 65,5% e una DFS a 24 mesi del 49,1%; nel gruppo con espressione di Claudina <70% (n = 10) si sono verificati 4 eventi, senza raggiungimento della mediana di DFS, con una DFS a 12 mesi e a 24 mesi del 50,8% (log-rank p = 0,704). Questi risultati sono riportati in Tabella 9.

Gruppo	N	Eventi	Mediana OS, mesi	OS 12 mesi	OS 24 mesi	p log-rank
E-caderina 2	21	10	18.8	57.5%	43.1%	0.274
E-caderina 0/1	6	1	NR	100.0%	50.0%	
Claudina 1	16	7	18.8	66.5%	44.3%	0.620
Claudina 0	11	4	19.6	64.0%	48.0%	

Tabella 8. Sopravvivenza globale (OS) secondo espressione di E-caderina e Claudina nella sottoanalisi biomolecolare.

Gruppo	N	Eventi	Mediana RFS, mesi	RFS 12 mesi	RFS 24 mesi	p log-rank
E-caderina 2	19	5	NR	68.1%	56.8%	0.415
E-caderina 0/1	6	3	8.7	40.0%	40.0%	
Claudina 1	15	4	16.8	65.5%	49.1%	0.704
Claudina 0	10	4	NR	50.8%	50.8%	

Tabella 9. Analisi esplorativa della disease-free survival (DFS).

5. DISCUSSIONE

Nonostante i progressi della chirurgia oncologica, della stadiazione e della terapia sistemica, la prognosi del carcinoma gastrico rimane ancora sfavorevole nelle forme localmente avanzate e metastatiche [1,2]. Tuttavia, negli ultimi due decenni numerosi studi randomizzati hanno dimostrato che l'approccio perioperatorio o neoadiuvante migliora gli outcome rispetto alla sola chirurgia, modificando in modo sostanziale il paradigma terapeutico. In particolare, il trial MAGIC ha documentato un vantaggio della chemioterapia perioperatoria rispetto alla chirurgia upfront [101], mentre il trial FLOT4-AIO ha consolidato il ruolo del regime FLOT come standard di riferimento nei pazienti con adenocarcinoma gastrico o della giunzione gastroesofagea localmente avanzato, resecabile e candidabile a trattamento intensivo [96]. In ambito italiano, il trial GASTRODOC ha inoltre esplorato l'impiego di una tripletta a base di docetaxel, oxaliplatino e capecitabina in pazienti con carcinoma gastrico localmente avanzato resecabile [102]. In questo contesto, le linee guida internazionali raccomandano la chemioterapia perioperatoria nei pazienti con malattia resecabile localmente avanzata candidabili a trattamento multimodale [28]. Inoltre, nei pazienti accuratamente selezionati con malattia inizialmente metastatica o borderline resecabile, la cosiddetta conversion surgery può rappresentare una strategia associata a sopravvivenze prolungate, come suggerito anche dall'esperienza multicentrica del GIRCG [85–87].

Nel presente studio, condotto in una coorte occidentale monocentrica di pazienti sottoposti a chemioterapia preoperatoria seguita da chirurgia, la sopravvivenza globale a 5 anni è risultata pari al 44,7%, con una mediana di OS di 42,6 mesi. Nel complesso, i nostri risultati confermano che outcome favorevoli possono essere ottenuti dopo trattamento multimodale nei pazienti con carcinoma gastrico localmente avanzato e, in casi selezionati, anche nel setting oligometastatico avviato a conversion surgery. I migliori risultati di sopravvivenza sono stati osservati nei pazienti sottoposti a resezione radicale, con tumore distale, con risposta clinica al restaging e con basso carico di malattia residua patologica, in particolare in presenza di stadi ypT e soprattutto ypN meno avanzati. Al contrario, il coinvolgimento sieroso, lo stadio ypN avanzato, l'invasione perineurale e la resezione R+ risultavano associati a prognosi sfavorevole. Queste osservazioni sono coerenti con la letteratura, che identifica la radicalità chirurgica, la qualità della linfoadenectomia e lo stato linfonodale post-trattamento tra i principali determinanti prognostici dopo terapia neoadiuvante [31,95,103].

Un aspetto di particolare interesse della nostra casistica riguarda il ruolo dell'estensione della linfoadenectomia e del harvesting linfonodale. Nel nostro studio, una linfoadenectomia più estesa è risultata associata a un outcome migliore, e questo dato va interpretato sia in chiave terapeutica sia in chiave di qualità della stadiazione patologica. La letteratura suggerisce che un numero elevato di linfonodi asportati e valutati migliori l'accuratezza della stadiazione e possa tradursi in un migliore controllo locoregionale; in particolare, revisioni recenti hanno sottolineato l'importanza di ottenere almeno 25 linfonodi dopo NAC, quando tecnicamente possibile [95,103]. Inoltre, lo stato linfonodale residuo e il lymph node ratio dopo trattamento preoperatorio rappresentano indicatori prognostici rilevanti nei pazienti con carcinoma gastrico localmente avanzato [103]. In questo senso, il nostro dato rafforza l'idea che la qualità della chirurgia e dell'esame anatomo-patologico resti un elemento centrale anche nell'era del trattamento multimodale.

Per quanto riguarda il regime chemioterapico, i nostri dati mostrano risultati migliori nei pazienti trattati con triplette contenenti taxani, in particolare FLOT/DOC-based, in accordo con il trial FLOT4-AIO e con l'esperienza GASTRODOC, che hanno supportato il ruolo dei regimi contenenti docetaxel nel trattamento perioperatorio o preoperatorio del carcinoma gastrico localmente avanzato [96,102]. Pur tenendo conto dei limiti intrinseci del confronto retrospettivo e dell'eterogeneità temporale dei trattamenti, questo risultato appare biologicamente plausibile e clinicamente coerente con l'attuale standard perioperatorio.

Il significato prognostico della regressione istologica secondo Becker rimane controverso in letteratura. Nella nostra esperienza, una maggiore regressione patologica si associava a migliori outcome in analisi univariata; tuttavia, il dato che emergeva in maniera più robusta era il peso prognostico della stadiazione linfonodale post-trattamento. Questo suggerisce che, nel carcinoma gastrico trattato con chemioterapia preoperatoria e chirurgia, la risposta del compartimento linfonodale possa rappresentare un indicatore prognostico più forte rispetto al solo tumor regression grade del tumore primitivo. Da un punto di vista clinico, ciò sottolinea l'importanza di una valutazione integrata della risposta patologica, che consideri non solo il tumore residuo nella parete gastrica ma anche l'effettivo burden nodale residuo [78,92,105].

Status MSI

Nella nostra serie, lo status MSI-H/dMMR risultava raro, essendo presente nel 6,6% dei casi sottoposti a trattamento preoperatorio. Questo dato è coerente con la letteratura, che documenta una prevalenza relativamente contenuta dei tumori MSI-H/dMMR nelle coorti resecabili candidate a strategia multimodale e una maggiore frequenza nei pazienti più anziani [42,55]. Il significato terapeutico di MSI nel setting perioperatorio è complesso. La meta-analisi su dati individuali dei trial MAGIC, CLASSIC, ARTIST e ITACA-S ha mostrato che i tumori MSI-H presentano una prognosi intrinsecamente più favorevole, ma non sembrano trarre un beneficio evidente dalla chemioterapia perioperatoria o adiuvante fluoropirimidina/platinum-based, a differenza dei tumori MSS [42]. Questo dato ha reso sempre più rilevante il problema del potenziale overtreatment in questo sottogruppo.

Nella nostra casistica, i tumori MSI mostravano una scarsa regressione patologica dopo chemioterapia preoperatoria: 7 degli 8 casi erano Becker 3 e nessun caso apparteneva alle categorie ypT0–ypT1. Pur nel limite della numerosità estremamente ridotta, questa osservazione si muove nella stessa direzione delle evidenze che suggeriscono una minore sensibilità dei tumori MSI-H alla chemioterapia convenzionale. Allo stesso tempo, la sopravvivenza osservata rimaneva elevata, a conferma del fatto che la prognosi dei tumori MSI-H/dMMR non può essere letta con gli stessi paradigmi dei tumori MSS. In questo contesto, il dato più rilevante del nostro studio non è tanto dimostrare l'effetto della chemioterapia nei tumori MSI, cosa che la nostra casistica non consente, quanto confermare che questo sottogruppo mantiene una biologia peculiare anche nel setting neoadiuvante [42,55].

Negli ultimi anni, il quadro terapeutico dei tumori MSI-H/dMMR resecabili si è ulteriormente evoluto grazie ai trial NEONIPIGA e INFINITY, che hanno riportato tassi molto elevati di risposta patologica completa con strategie immunoterapiche neoadiuvanti chemo-free [97,98]. Inoltre, il recente sviluppo del trattamento perioperatorio e neoadiuvante immuno-oncologico rende sempre più plausibile l'integrazione precoce dell'immunoterapia nei tumori resecabili MSI-H/dMMR [74,100]. Pertanto, la determinazione dello status MSI/dMMR dovrebbe essere eseguita sistematicamente già sul campione bioptico iniziale, prima della definizione del percorso terapeutico, non solo per il suo valore prognostico ma soprattutto per il crescente ruolo come biomarcatore di selezione terapeutica [28,97,98].

Status HER2

L’overespressione o amplificazione di HER2 identifica un sottogruppo biologicamente distinto di carcinoma gastrico, più frequentemente associato all’istotipo intestinale, ed è ormai un biomarcatore terapeutico consolidato nella malattia avanzata [38,50,53]. Nella nostra serie, i tumori HER2-positivi rappresentavano il 9,9% dei casi e mostravano una distribuzione significativamente associata all’istotipo intestinale, in linea con la letteratura. Inoltre, i casi HER2-positivi presentavano una quota maggiore di regressione patologica favorevole secondo Becker. Questo dato va interpretato con cautela, ma suggerisce che il fenotipo HER2-positivo possa identificare un sottogruppo con biologia differente nel setting perioperatorio [50,53,99].

Nel nostro studio, i pazienti HER2-positivi mostravano un’OS a 5 anni numericamente superiore rispetto ai HER2-negativi. L’analisi univariata non raggiungeva la significatività statistica, verosimilmente per la ridotta dimensione del sottogruppo, ma l’analisi multivariata identificava lo status HER2-negativo come fattore indipendentemente associato a prognosi peggiore. Si tratta di un risultato interessante, ma che richiede estrema prudenza interpretativa. Gran parte della letteratura storica che descrive una prognosi peggiore dei tumori HER2-positivi deriva infatti da coorti eterogenee, spesso trattate con chirurgia upfront o in setting metastatici, e quindi non è direttamente sovrapponibile a una popolazione selezionata per trattamento perioperatorio [53].

Nella nostra coorte, inoltre, lo status HER2 non era disponibile all’inizio del trattamento e nessun paziente HER2-positivo ha ricevuto trastuzumab in prima linea nel setting perioperatorio; pertanto, il vantaggio osservato non può essere attribuito a una terapia anti-HER2, ma semmai interpretato come segnale ipotetico di una diversa biologia di malattia. Il ruolo di HER2 nel setting perioperatorio è comunque di grande attualità. Il trial PETRARCA ha mostrato che l’aggiunta di trastuzumab e pertuzumab a FLOT aumenta i tassi di risposta patologica e di ypN0 nei tumori HER2-positivi resecabili, pur a fronte di una maggiore tossicità [106]. Parallelamente, il trial MATTERHORN ha dimostrato che l’aggiunta di durvalumab a FLOT migliora l’event-free survival nei tumori gastrici e della giunzione resecabili, contribuendo a ridefinire lo scenario del trattamento perioperatorio, sebbene non si tratti di uno studio specificamente HER2-driven [100]. Nel complesso, i nostri risultati non consentono di concludere che HER2 sia di per sé un biomarcatore predittivo di risposta favorevole alla sola chemioterapia standard; consentono però di ipotizzare che, nel setting neoadiuvante, la positività per

HER2 identifichi un sottogruppo biologicamente distinto, meritevole di ulteriore validazione in coorti multicentriche più ampie [99,100,106].

E-caderina e Claudina 18.2

La sottoanalisi dedicata ai carcinomi scarsamente coesi rappresenta uno degli aspetti più originali del nostro studio, pur con tutti i limiti legati alla ridotta numerosità. E-caderina e Claudina 18.2 sono biomarcatori di forte interesse biologico nel carcinoma gastrico diffuso/scarsamente coeso. La perdita di E-caderina, legata ad alterazioni di CDH1, è strettamente connessa alla perdita di adesione cellulare, alla crescita infiltrativa e alla tumorigenesi diffusa [12,13,63]. Claudina 18.2, oltre a rappresentare un target terapeutico emergente, sembra identificare sottogruppi con caratteristiche biologiche peculiari, anche se il suo significato prognostico non è ancora del tutto definito [43,44,49]. Nel nostro campione, la maggior parte dei casi valutabili presentava espressione conservata di E-caderina, mentre il gruppo con espressione ridotta o assente era numericamente molto limitato. L'unica differenza significativa osservata riguardava l'età più avanzata nei casi con E-caderina 0/1; non emergevano invece associazioni robuste con lo stadio patologico, la risposta secondo Becker, la recidiva o la sopravvivenza. Anche per Claudina 18.2, dicotomizzata secondo la soglia del 70%, non emergevano differenze statisticamente significative per la maggior parte delle variabili clinico-patologiche né per gli outcome di OS o DFS. Si osservava soltanto un trend non significativo per lo stadio ypT, con una maggiore rappresentazione di ypT3 nel gruppo con espressione ≥70%.

Nel complesso, questi dati suggeriscono che, all'interno di una popolazione già fortemente selezionata di tumori scarsamente coesi sottoposti a trattamento neoadiuvante, il potenziale segnale prognostico di questi biomarcatori possa essere attenuato oppure mascherato dalla bassa potenza statistica. Dal punto di vista interpretativo, i nostri risultati non contraddicono il razionale biologico di E-caderina e Claudina 18.2, ma suggeriscono che il loro impatto clinico nel setting perioperatorio non possa essere dedotto automaticamente da studi trasversali o da coorti metastatiche. Per Claudina 18.2, la letteratura recente tende a supportare soprattutto il suo ruolo come biomarcatore terapeutico, mentre il valore prognostico appare più eterogeneo e dipendente dal contesto istologico e dallo stadio di malattia [43,44,49]. Per E-caderina, invece, la rilevanza appare più chiaramente biologica e classificativa che immediatamente terapeutica, almeno allo stato attuale delle evidenze cliniche [12,13,63]. Anche in questo ambito, saranno

necessari studi collaborativi più ampi per comprendere se questi marcatori abbiano un ruolo predittivo o prognostico reale nel setting della terapia preoperatoria.

Le principali limitazioni del presente studio sono rappresentate dal disegno retrospettivo, dalla natura monocentrica e dalla dimensione campionaria relativamente contenuta, in particolare nei sottogruppi molecolari. A ciò si aggiungono la bassa prevalenza dei casi MSI e HER2-positivi e il numero molto limitato di pazienti inclusi nella sottoanalisi di E-caderina e Claudina 18.2. Questi aspetti aumentano il rischio di errore di II tipo e impongono cautela nell'interpretazione dei risultati, soprattutto quando i dati suggeriscono trend non supportati da significatività statistica. D'altra parte, lo studio presenta anche elementi di forza: l'approccio chirurgico è stato sostanzialmente standardizzato, la stadiazione patologica è stata accurata, il dataset clinico-radiologico è dettagliato e l'analisi molecolare è stata integrata in una coorte occidentale ben caratterizzata trattata con intento multimodale. In particolare, l'attenzione al harvesting linfonodale, alla mappatura dei linfonodi e alla qualità della stadiazione postoperatoria rappresenta un punto di forza metodologico [90,95,104].

In quest'ottica, i nostri risultati sostengono la necessità di studi collaborativi multicentrici, idealmente in ambito GIRCG, per validare in modo più robusto il ruolo predittivo e prognostico di HER2, MSI, E-caderina e Claudina 18.2 nel setting neoadiuvante/perioperatorio. Parallelamente, l'evoluzione del trattamento sistemico — con l'integrazione di immunoterapia nei tumori MSI-H/dMMR e l'espansione delle strategie biomarker-driven nei tumori HER2-positivi o CLDN18.2-positivi — rende sempre più importante una profilazione molecolare precoce e standardizzata già sul materiale bioptico iniziale [28,43,49,97,98,100,106].

6. BIBLIOGRAFIA

1. Gastric Cancer. Sundar R, Nakayama I, Markar SR, et al. Lancet (London, England). 2025;405(10494):2087-2102. doi:10.1016/S0140-6736(25)00052-2.

2. Gastric Cancer. Patel AK, Sethi NS, Park H. JAMA. 2026;:2843616. doi:10.1001/jama.2025.20034.

3. Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2024 May-Jun;74(3):229-263. doi:10.3322/caac.21834.

4. AIOM, AIRTUM, Fondazione AIOM, PASSI, PASSI d'Argento, SIAPEC-IAP. I numeri del cancro in Italia 2024. Intermedia Editore; 2024.

5. Trends in Gastric Cancer Mortality 1990-2019 in 36 Countries Worldwide, With Predictions to 2025, and Incidence, Overall and by Subtype. Collatuzzo G, Santucci C, Malvezzi M, et al. Cancer Medicine. 2023;12(8):9912-9925. doi:10.1002/cam4.5685.

6. Resolving Gastric Cancer Aetiology: An Update in Genetic Predisposition. Lott PC, Carvajal-Carmona LG. The Lancet. Gastroenterology & Hepatology. 2018;3(12):874-883. doi:10.1016/S2468-1253(18)30237-1.

7. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer. Yang WJ, Zhao HP, Zhou L, et al. World J Gastroenterol. 2023;29(16):2452-2468. doi:10.3748/wjg.v29.i16.2452.

8. Risk Factors and Incidence of Gastric Cancer After Detection of Helicobacter Pylori Infection: A Large Cohort Study. Kumar S, Metz DC, Ellenberg S, Kaplan DE, Goldberg DS. Gastroenterology. 2020;158(3):527-536.e7. doi:10.1053/j.gastro.2019.10.019.

9. Risk Factors of Gastric Cancer and Lifestyle Modification for Prevention. Ko KP. Journal of Gastric Cancer. 2024;24(1):99-107. doi:10.5230/jgc.2024.24.e10.

10. Risk Factors for Gastric Cancer: An Umbrella Review of Systematic Reviews and Meta-Analyses. Liang JL, Yuan HM, Quan C, Chen JQ. Frontiers in Oncology. 2025;15:1564575. doi:10.3389/fonc.2025.1564575.

11. Exploring the Interactions Between Helicobacter Pylori (Hp) Infection and Other Risk Factors of Gastric Cancer: A Pooled Analysis in the Stomach Cancer Pooling (StoP) Project. Collatuzzo G, Pelucchi C, Negri E, et al. International Journal of Cancer. 2021;149(6):1228-1238. doi:10.1002/ijc.33678.

12. Familial Gastric Cancer: Genetic Susceptibility, Pathology, and Implications for Management. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. The Lancet. Oncology. 2015;16(2):e60-70. doi:10.1016/S1470-2045(14)71016-2.

13. Familial and Hereditary Gastric Cancer, an Overview. Carneiro F. Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology. 2022 Jun-Aug;58-59:101800. doi:10.1016/j.bpg.2022.101800.

14. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal, Endometrial, and Gastric. National Comprehensive Cancer Network. Updated 2025-06-13.

15. Germline CDH1 Variants and Lifetime Cancer Risk. Ryan CE, Fasaye GA, Gallanis AF, et al. JAMA. 2024;332(9):722-729. doi:10.1001/jama.2024.10852.

16. Genotype-First Approach to Identify Associations Between CDH1 Germline Variants and Cancer Phenotypes: A Multicentre Study by the European Reference Network on Genetic Tumour Risk Syndromes. Garcia-Pelaez J, Barbosa-Matos R, Lobo S, et al. The Lancet. Oncology. 2023;24(1):91-106. doi:10.1016/S1470-2045(22)00643-X.

17. Hereditary diffuse gastric and lobular breast cancer syndrome associated with germline CDH1 variants: focus on lobular breast cancer. Corso G, Magnoni F, Bogani G, et al. J Cancer Res Clin Oncol. 2025;151:164. PMID: 40366456.

18. Risk Factors for Gastric Cancer in Patients With Lynch Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. da Silva DC, Sousa F, Silva A, Sousa-Pinto B. Annals of Surgical Oncology. 2025;:10.1245/s10434-025-17664-4. doi:10.1245/s10434-025-17664-4.

19. CDH1 Genotype Exploration in Women With Hereditary Lobular Breast Cancer Phenotype. Corso G, Marino E, Zanzottera C, et al. JAMA Netw Open. 2024;7(4):e247862. doi:10.1001/jamanetworkopen.2024.7862.

20. Second-hit CDH1 gene mechanisms in hereditary diffuse gastric and lobular breast cancer syndrome: frequency and impact on tumorigenesis. Corso G, et al. Hum Mol Genet. 2025. PMID: 40485214.

21. Lauren Classification and Individualized Chemotherapy in Gastric Cancer. Ma J, Shen H, Kapesa L, Zeng S. Oncology Letters. 2016;11(5):2959-2964. doi:10.3892/ol.2016.4337.

22. Pathology and Molecular Biology of Gastric Cancer. Vauhkonen M, Vauhkonen H, Sipponen P. Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology. 2006;20(4):651-74. doi:10.1016/j.bpg.2006.03.016.

23. Clinicopathological Characteristics and Prognostic Analysis of Lauren Classification in Gastric Adenocarcinoma in China. Qiu MZ, Cai MY, Zhang DS, et al. Journal of Translational Medicine. 2013;11:58. doi:10.1186/1479-5876-11-58.

24. Pathohistological Classification Systems in Gastric Cancer: Diagnostic Relevance and Prognostic Value. Berlth F, Bollschweiler E, Drebber U, Hoelscher AH, Moenig S. World Journal of Gastroenterology. 2014;20(19):5679-84. doi:10.3748/wjg.v20.i19.5679.

25. Prognostic Value of Signet-Ring Cell Carcinoma Proportion in Undifferentiated Gastric Cancer: Implications for Endoscopic Treatment Decisions. Kim C, Lee HS, Na HY, et al. World Journal of Gastroenterology. 2025;31(30):109465. doi:10.3748/wjg.v31.i30.109465.

26. Signet Ring Cell Percentage in Poorly Cohesive Gastric Cancer Patients: A Potential Novel Predictor of Survival. Roviello F, Marano L, Ambrosio MR, et al. European Journal of Surgical Oncology : The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. 2022;48(3):561-569. doi:10.1016/j.ejso.2021.09.003.

27. Clinical Features of Gastric Signet Ring Cell Cancer: Results From a Systematic Review and Meta-Analysis. Dal Cero M, Bencivenga M, Liu DHW, et al. Cancers. 2023;15(21):5191. doi:10.3390/cancers15215191.

28. Gastric Cancer. National Comprehensive Cancer Network. Updated 2026-01-21.

29. Revised Points and Disputed Matters in the Eighth Edition of the TNM Staging System for Gastric Cancer. Kumagai K, Sano T. Japanese Journal of Clinical Oncology. 2021;51(7):1024-1027. doi:10.1093/jjco/hyab069.

30. Validation of the 8th Edition of the AJCC TNM Staging System for Gastric Cancer Using the National Cancer Database. In H, Solsky I, Palis B, et al. Annals of Surgical Oncology. 2017;24(12):3683-3691. doi:10.1245/s10434-017-6078-x.

31. Surgical Management of Gastric Cancer: A Review. Li GZ, Doherty GM, Wang J. JAMA Surgery. 2022;157(5):446-454. doi:10.1001/jamasurg.2022.0182.

32. Reconsidering the Terminology of "Early" and "Advanced" Gastric Cancer: Toward a Harmonized Global Lexicon. Sano T, Boku N, Lordick F. Gastric Cancer : Official Journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association. 2026;:10.1007/s10120-026-01717-y. doi:10.1007/s10120-026-01717-y.

33. Early Gastric Cancer: A Challenge in Western Countries. Chiarello MM, Fico V, Pepe G, et al. World Journal of Gastroenterology. 2022;28(7):693-703. doi:10.3748/wjg.v28.i7.693.

34. Effect of Laparoscopic vs Open Distal Gastrectomy on 3-Year Disease-Free Survival in Patients With Locally Advanced Gastric Cancer: The CLASS-01 Randomized Clinical Trial. Yu J, Huang C, Sun Y, et al. JAMA. 2019;321(20):1983-1992. doi:10.1001/jama.2019.5359.

35. ACR Appropriateness Criteria® Staging and Follow-Up of Gastric Cancer. Expert Panel on Gastrointestinal Imaging, Bhosale PR, Virarkar MK, et al. Journal of the American College of Radiology : JACR. 2026;:S1546-1440(26)00041-4. doi:10.1016/j.jacr.2026.01.019.

36. Staging of Gastric Cancer: CT Patterns and Correlation With Pathologic Findings. Di Gregorio F, Polici M, Pilozzi E, et al. Radiographics : A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc. 2025;45(8):e240186. doi:10.1148/rg.240186.

37. Staging Laparoscopy in Gastric Cancer Patients: From a Dutch Nationwide Delphi Consensus Towards a Standardized Protocol. van der Sluis K, Guchelaar NAD, Triemstra L, et al. European Journal of Surgical Oncology : The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. 2024;50(6):108278. doi:10.1016/j.ejso.2024.108278.

38. Comprehensive Molecular Characterization of Gastric Adenocarcinoma. Nature. 2014;513(7517):202-9. doi:10.1038/nature13480.

39. Clinical Implications of the Cancer Genome Atlas Molecular Classification System in Esophagogastric Cancer. Walch HS, Borpatragohain R, Jee J, et al. Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research. 2025;31(10):1912-1921. doi:10.1158/1078-0432.CCR-24-3473.

40. Molecular Analysis of Gastric Cancer Identifies Subtypes Associated With Distinct Clinical Outcomes. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, et al. Nature Medicine. 2015;21(5):449-56. doi:10.1038/nm.3850.

41. Genomic Landscape of Late-Stage Gastric Cancer: Analysis From KEYNOTE-059, KEYNOTE-061, and KEYNOTE-062 Studies. Janjigian YY, Cecchini M, Shitara K, et al. JCO Precision Oncology. 2025;9:e2400456. doi:10.1200/PO-24-00456.

42. Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability as a Biomarker in Gastric Cancer. Pietrantonio F, Miceli R, Raimondi A, et al. Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology. 2019;37(35):3392-3400. doi:10.1200/JCO.19.01124.

43. Zolbetuximab Plus mFOLFOX6 in Patients With CLDN18.2-positive, HER2-negative, Untreated, Locally Advanced Unresectable or Metastatic Gastric or Gastro-Oesophageal Junction Adenocarcinoma (SPOTLIGHT): A Multicentre, Randomised, Double-Blind, Phase 3 Trial. Shitara K, Lordick F, Bang YJ, et al. Lancet (London, England). 2023;401(10389):1655-1668. doi:10.1016/S0140-6736(23)00620-7.

44. Claudin 18.2 as a Novel Therapeutic Target. Nakayama I, Qi C, Chen Y, et al. Nature Reviews. Clinical Oncology. 2024;21(5):354-369. doi:10.1038/s41571-024-00874-2.

45. Histo- And Immunohistochemistry-Based Estimation of the TCGA and ACRG Molecular Subtypes for Gastric Carcinoma and Their Prognostic Significance: A Single-Institution Study. Yoon JY, Sy K, Brezden-Masley C, Streutker CJ. PloS One. 2019;14(12):e0224812. doi:10.1371/journal.pone.0224812.

46. Molecular Subtyping of Gastric Cancer According to ACRG Using Immunohistochemistry - Correlation With Clinical Parameters. Pretzsch E, Bösch F, Todorova R, et al. Pathology, Research and Practice. 2022;231:153797. doi:10.1016/j.prp.2022.153797.

47. Clinical Characteristics and Prognostic Significance of TCGA and ACRG Classification in Gastric Cancer Among the Chinese Population. Wang Q, Xie Q, Liu Y, et al. Molecular Medicine Reports. 2020;22(2):828-840. doi:10.3892/mmr.2020.11183.

48. Immunohistochemical-Based Molecular Typing of ACRG Combined With Immune-Associated PD-L1 Expression Can Predict the Prognosis of Gastric Cancer. Li F, Deng H, Hu Z, et al. Cancer Medicine. 2025;14(7):e70863. doi:10.1002/cam4.70863.

49. Zolbetuximab Plus CAPOX in CLDN18.2-positive Gastric or Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma: The Randomized, Phase 3 GLOW Trial. Shah MA, Shitara K, Ajani JA, et al. Nature Medicine. 2023;29(8):2133-2141. doi:10.1038/s41591-023-02465-7.

50. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. Lancet. 2010;376(9742):687-697.

51. Pous, A.; Notario, L.; Hierro, C.; Layos, L.; Bugés, C. HER2-Positive Gastric Cancer: The Role of Immunotherapy and Novel Therapeutic Strategies. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 11403. https://doi.org/10.3390/ijms241411403

52. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. Arch Pathol Lab Med. 2014;138(2):241-256.

53. Subasinghe D, Acott N, Kumarasinghe MP. A survival guide to HER2 testing in gastric/gastroesophageal junction carcinoma. Gastrointest Endosc. 2019;90(1):44-54. doi:10.1016/j.gie.2019.03.022.

54. Chrzanowska NM, Kowalewski J, Lewandowska MA. Use of fluorescence in situ hybridization (FISH) in diagnosis and tailored therapies in solid tumors. Molecules. 2020;25(8):1864. doi:10.3390/molecules25081864.

55. Marrelli D, Polom K, Pascale V, et al. Strong prognostic value of microsatellite instability in intestinal type non-cardia gastric cancer. Ann Surg Oncol. 2016;23(3):943-950.

56. Elisabetta Puliga, Simona Corso, Filippo Pietrantonio, Silvia Giordano, Microsatellite instability in Gastric Cancer: Between lights and shadows,Cancer Treatment Reviews,Volume 95, 2021.

57. Yamamoto G, Ito T, Suzuki O, et al. Concordance between microsatellite instability testing and immunohistochemistry for mismatch repair proteins and efficient screening of mismatch repair deficient gastric cancer. Oncol Lett. 2023;26(5):494. doi:10.3892/ol.2023.14081.

58. Gastric Cancer Epithelial-Mesenchymal Transition-the Role of Micro-Rna. Biskupski M, Brachet A, Hunek G, et al. Cancers. 2026;18(3):462. doi:10.3390/cancers18030462.

59. Enhanced Epithelial-Mesenchymal Transition Signatures Are Linked With Adverse Tumor Microenvironment, Angiogenesis and Worse Survival in Gastric Cancer. Oshi M, Roy AM, Yan L, et al. Cancer Gene Therapy. 2024;31(5):746-754. doi:10.1038/s41417-024-00756-w.

60. Role of Epithelial-Mesenchymal Transition in Gastric Cancer Initiation and Progression. Peng Z, Wang CX, Fang EH, Wang GB, Tong Q. World Journal of Gastroenterology. 2014;20(18):5403-10. doi:10.3748/wjg.v20.i18.5403.

61. EHBMT, a Method for Visualizing Tumor Evolution, Identifies a Surge in Gastric Cancer With Hybrid Epithelial-Mesenchymal Phenotypes Due to an Inflammatory Microenvironment. Li D, Zhou Z, Hui Y, et al. Experimental & Molecular Medicine. 2025;:10.1038/s12276-025-01570-6. doi:10.1038/s12276-025-01570-6.

62. Epithelial-to-Mesenchymal Transition Predicts Prognosis in Clinical Gastric Cancer. Murai T, Yamada S, Fuchs BC, et al. Journal of Surgical Oncology. 2014;109(7):684-9. doi:10.1002/jso.23564.

63. Immunohistochemical Markers of the Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) Are Related to Extensive Lymph Nodal Spread, Peritoneal Dissemination, and Poor Prognosis in the Microsatellite-Stable Diffuse Histotype of Gastric Cancer. Marrelli D, Marano L, Ambrosio MR, et al. Cancers. 2022;14(24):6023. doi:10.3390/cancers14246023.

64. Network-Based and Machine-Learning Approaches Identify Diagnostic and Prognostic Models for EMT-Type Gastric Tumors. Sadeghi M, Karimi MR, Karimi AH, et al. Genes. 2023;14(3):750. doi:10.3390/genes14030750.

65. Metastasis Related Epithelial-Mesenchymal Transition Signature Predicts Prognosis and Response to Immunotherapy in Gastric Cancer. Song J, Wei R, Huo S, Gao J, Liu X. Frontiers in Immunology. 2022;13:920512. doi:10.3389/fimmu.2022.920512.

66. Construction of a Survival Prognosis Model for Epithelial-Mesenchymal Transition-Related Genes in Gastric Cancer. Wu J, Huang Y, Wang X, et al. European Journal of Medical Research. 2025;:10.1186/s40001-025-03577-1. doi:10.1186/s40001-025-03577-1.

67. American Society for Gastrointestinal Endoscopy Guideline on Endoscopic Submucosal Dissection for the Management of Early Esophageal and Gastric Cancers: Summary and Recommendations. Forbes N, Elhanafi SE, Al-Haddad MA, et al. Gastrointestinal Endoscopy. 2023;98(3):271-284. doi:10.1016/j.gie.2023.03.015.

68. ASGE guideline on endoscopic submucosal dissection for the management of early esophageal and gastric cancers: summary and recommendations. Nauzer Forbes MD MSc FASGE, Sherif E. Elhanafi MD, Mohammad A. Al-Haddad MD FASGE, et al. American Society for Gastrointestinal Endoscopy (2023).

69. Endoscopic Submucosal Dissection vs. Endoscopic Mucosal Resection for Early Gastric Cancer: A Meta-Analysis. Zheng X, Xu L. Frontiers in Medicine. 2025;12:1702512. doi:10.3389/fmed.2025.1702512.

70. Impact of Surgical Margins on Overall Survival After Gastrectomy for Gastric Cancer: A Validation of Japanese Gastric Cancer Association Guidelines on a Western Series. Maspero M, Sposito C, Benedetti A, et al. Annals of Surgical Oncology. 2022;29(5):3096-3108. doi:10.1245/s10434-021-11010-0.

71. Adequate Gross Resection Margin Length Ensuring Pathologically Complete Resection in Gastrectomy for Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Hayami M, Ohashi M,

Kurihara N, Nunobe S. Annals of Gastroenterological Surgery. 2024;8(2):202-213. doi:10.1002/ags3.12761.

72. Maintenance of Resection Margins in Gastrectomy for Cancer: Simple in Procedure, Influential in Survival-Current Status and Literature Review on Optimal Lengths and Positive Margins. Hayami M, Ohashi M, Ri M, et al. Surgery Today. 2025;:10.1007/s00595-025-03068-0. doi:10.1007/s00595-025-03068-0.

73. Extent of Lymph Node Dissection for Adenocarcinoma of the Stomach. Mocellin S, McCulloch P, Kazi H, et al. The Cochrane Database of Systematic Reviews. 2015;(8):CD001964. doi:10.1002/14651858.CD001964.pub4.

74. Neoadjuvant and Adjuvant Pembrolizumab Plus Chemotherapy in Locally Advanced Gastric or Gastro-Oesophageal Cancer (KEYNOTE-585): An Interim Analysis of the Multicentre, Double-Blind, Randomised Phase 3 Study. Shitara K, Rha SY, Wyrwicz LS, et al. The Lancet. Oncology. 2024;25(2):212-224. doi:10.1016/S1470-2045(23)00541-7.

75. Preoperative Chemoradiotherapy for Resectable Gastric Cancer. Leong T, Smithers BM, Michael M, et al. The New England Journal of Medicine. 2024;391(19):1810-1821. doi:10.1056/NEJMoa2405195.

76. Management of Gastric Cancer in Asia: Resource-Stratified Guidelines. Shen L, Shan YS, Hu HM, et al. The Lancet. Oncology. 2013;14(12):e535-47. doi:10.1016/S1470-2045(13)70436-4.

77. Response Evaluation After Neoadjuvant Chemotherapy for Resectable Gastric Cancer. Sandø AD, Fougner R, Røyset ES, et al. Cancers. 2023;15(8):2318. doi:10.3390/cancers15082318.

78. Comparison of Response Evaluation Criteria in Solid Tumors and Tumor Regression Grade in Evaluating the Effect of Preoperative Systemic Therapy of Gastric Cancer. Lai MY, Kang SY, Sun YT, et al. BMC Cancer. 2022;22(1):1031. doi:10.1186/s12885-022-10125-1.

79. Tumor regression grade and overall survival following gastrectomy with neoadjuvant therapy for gastric cancer. Savoldy M, Sinnamon A, Mehta R, et al. Journal of Clinical Oncology. 2022;40(Suppl 4):355. doi:10.1200/JCO.2022.40.4_suppl.355.

80. Feasibility of Extended Postoperative Follow-Up in Patients With Gastric Cancer. Lee JH, Kim J, Choi JY. JAMA Surgery. 2024;159(9):1009-1017. doi:10.1001/jamasurg.2024.1753.

81. Follow-Up After Gastrectomy for Cancer: An Appraisal of the Italian Research Group for Gastric Cancer. Baiocchi GL, Marrelli D, Verlato G, et al. Annals of Surgical Oncology. 2014;21(6):2005-11. doi:10.1245/s10434-014-3534-8.

82. Follow-Up After Gastrectomy for Cancer: Results of an International Web Round Table. Baiocchi GL, Kodera Y, Marrelli D, et al. World Journal of Gastroenterology. 2014;20(34):11966-71. doi:10.3748/wjg.v20.i34.11966.

83. Is Endoscopic Surveillance Necessary for Patients Who Undergo Total Gastrectomy for Gastric Cancer?. Park SJ, Park YS, Jung IS, et al. PloS One. 2018;13(6):e0196170. doi:10.1371/journal.pone.0196170.

84. More Frequent Follow-Up CT Scans in Postsurgical Resection Patients Than in Postendoscopic Resection Patients of Early Gastric Cancers: Impracticality of CTs for Mucosal Cancer. Choi MH, Jung SE, Lee YJ, Yoon SB. Academic Radiology. 2019;26(5):651-657. doi:10.1016/j.acra.2018.07.020.

85. Morgagni P, Bencivenga M, Carneiro F, Cascinu S, Derks S, Di Bartolomeo M, et al. International consensus on the management of metastatic gastric cancer: step by step in the foggy landscape. Gastric Cancer. 2024;27(4):649-671. doi:10.1007/s10120-024-01479-5.

86. Bencivenga M, Ministrini S, Morgagni P, Mura G, Marrelli D, Milandri C, et al. Oligometastatic Gastric Cancer: Clinical Data from the Meta-Gastro Prospective Register of the Italian Research Group on Gastric Cancer. Cancers (Basel). 2024;16(1):170. doi:10.3390/cancers16010170.

87. Solaini L, Ministrini S, Bencivenga M, D'Ignazio A, Marino E, Cipollari C, et al. Conversion gastrectomy for stage IV unresectable gastric cancer: a GIRCG retrospective cohort study. Gastric Cancer. 2019;22(6):1285-1293. doi:10.1007/s10120-019-00968-2.

88. Zolbetuximab + mFOLFOX6 as first-line (1L) treatment for patients (pts) with claudin-18.2+ (CLDN18.2+) / HER2− locally advanced (LA) unresectable or metastatic gastric or gastroesophageal junction (mG. Shitara K, Lordick F, Bang Y, et al. Journal of Clinical Oncology. 2023;41(Suppl 4):LBA292. doi:10.1200/JCO.2023.41.4_suppl.LBA292.

89. Mazzei MA, Bencivenga M, Morgagni P, et al. Structured and shared CT radiological report of gastric cancer: a consensus proposal by the Italian Research Group for Gastric Cancer (GIRCG) and the Italian Society of Medical and Interventional Radiology (SIRM). Eur Radiol. 2022;32(2):938-949.

90. De Manzoni G, Marrelli D, Baiocchi GL, et al. The Italian Research Group for Gastric Cancer (GIRCG) guidelines for gastric cancer staging and treatment: 2015. Gastric Cancer. 2017;20(1):20-30.

91. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer. 2009;45(2):228-247. doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026.

92. Becker K, Mueller JD, Schulmacher C, et al. Histomorphology and grading of regression in gastric carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. Cancer. 2003;98(7):1521-1530.

93. Bass BP, Engel KB, Greytak SR, Moore HM. A review of preanalytical factors affecting molecular, protein, and morphological analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue: how well do you know your FFPE specimen? Arch Pathol Lab Med. 2014;138(11):1520-1530.

94. Sadeghipour A, Babaheidarian P. Making Formalin-Fixed, Paraffin Embedded Blocks. In: Yong WH, ed. Biobanking. Methods in Molecular Biology. Vol 1897. Humana Press; 2019:253-268. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_22.

95. Marano L, Carbone L, Poto GE, Restaino V, Piccioni SA, Verre L, Roviello F, Marrelli D. Extended Lymphadenectomy for Gastric Cancer in the Neoadjuvant Era: Current Status, Clinical Implications and Contentious Issues. Curr Oncol. 2023;30(1):875-896. doi:10.3390/curroncol30010067.

96. Al-Batran SE, Homann N, Pauligk C, Goetze TO, Meiler J, Kasper S, et al. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomized, phase 2/3 trial. Lancet. 2019;393(10184):1948-1957. doi:10.1016/S0140-6736(18)32557-1.

97. André T, Tougeron D, Piessen G, de la Fouchardière C, Louvet C, Adenis A, et al. Neoadjuvant nivolumab plus ipilimumab and adjuvant nivolumab in localized deficient mismatch repair/microsatellite instability-high gastric or esophagogastric junction adenocarcinoma: the GERCOR NEONIPIGA phase II study. J Clin Oncol. 2023;41(2):255-265. doi:10.1200/JCO.22.00686.

98. Raimondi A, Pagani F, Pietrantonio F, et al. Tremelimumab and durvalumab as neoadjuvant or non-operative management for mismatch repair deficient/microsatellite instability-high resectable gastric or gastroesophageal junction cancer: the INFINITY study. Ann Oncol. 2025. doi:10.1016/j.annonc.2024.11.009.

99. Piccioni SA, Costantini M, Petrioli R, Bagnacci G, Ferrara D, Andreucci E, et al. Impact of HER2 and microsatellite instability status on response to neoadjuvant/conversion therapy and survival in patients with gastric cancer. Eur J Cancer Prev. 2025;35(1):66-77. doi:10.1097/CEJ.0000000000000982.

100. Janjigian YY, Al-Batran SE, Wainberg ZA, Muro K, Molena D, Van Cutsem E, et al.; MATTERHORN Investigators. Perioperative Durvalumab in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer. N Engl J Med. 2025;393(3):217-230. doi:10.1056/NEJMoa2503701.

101. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJH, Nicolson M, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. N Engl J Med. 2006;355(1):11-20. doi:10.1056/NEJMoa055531.

102. Monti M, Morgagni P, Nanni O, Framarini M, Saragoni L, Marrelli D, et al. Preoperative or Perioperative Docetaxel, Oxaliplatin, and Capecitabine (GASTRODOC Regimen) in Patients with Locally-Advanced Resectable Gastric Cancer: A Randomized Phase-II Trial. Cancers (Basel). 2020;12(10):2790. doi:10.3390/cancers12102790.

103. Rawicz-Pruszyński K, Ciseł B, Mlak R, Mielko J, Skórzewska M, Kwietniewska M, Pikuła A, Gęca K, Sędłak K, Kurylcio A, et al. The Role of the Lymph Node Ratio in Advanced Gastric Cancer After Neoadjuvant Chemotherapy. Cancers (Basel). 2019;11(12):1914. doi:10.3390/cancers11121914.

104. Marrelli D, Piccioni SA, Carbone L, Petrioli R, Costantini M, Malagnino V, et al. Posterior and Para-Aortic (D2plus) Lymphadenectomy after Neoadjuvant/Conversion Therapy for Locally

Advanced/Oligometastatic Gastric Cancer. Cancers (Basel). 2024;16(7):1376. doi:10.3390/cancers16071376.

105. Garbarino GM, Mainardi F, Berardi E, Zerunian M, Polici M, Campanelli M, et al. Tumor regression grade (TRG) for gastric cancer and radiological methods on predicting response to perioperative chemotherapy: a narrative review. Dig Med Res. 2023;6:2. doi:10.21037/dmr-22-34.

106. Hofheinz RD, Merx K, Haag GM, et al. FLOT versus FLOT/trastuzumab/pertuzumab perioperative therapy of human epidermal growth factor receptor 2-positive resectable esophagogastric adenocarcinoma: a randomized phase II trial of the AIO EGA Study Group. J Clin Oncol. 2022;40(32):3750-3761. doi:10.1200/JCO.22.00380.